



THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. 32. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. J. Behrens, Direktor der biologischen Anstalt zu Dahlem-Berlin, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-Castle-upon-Tyne, Prof. Dr. Samuel C. Prescott in Boston, Prof. Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Van Laer in Gand, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Zweite Abteilung. 32. Band.

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie
und Pflanzenpathologie.**

Mit 9 Tafeln und 82 Figuren im Texte.

Jena

Verlag von Gustav Fischer

1912

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 32. No. 1/2.

Ausgegeben am 5. Dezember 1911.

Nachdruck verboten.

Studien über edaphische Organismen.

[Arbeiten aus dem Biologischen Institut, München I.]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **R. H. Francé.**

Seit den ersten Arbeiten **R. Koch's** über Bodenbakterien hat sich zwar deren Kenntnis überraschend entwickelt, soweit sie bakteriologisches und chemisches Interesse weckt, eine sehr langsame Entwicklung dagegen nahm jener Teil der Fragen, der in das Gebiet der mechanischen Aufschließung des Bodens durch Mikroorganismen fällt. Seit den klassischen Arbeiten von **Wollny** und **P. E. Müller** über Zersetzung und natürliche Humusformen ist von weiterblickenden Arbeiten dieser Richtung eigentlich nur jene von **K. Die m** über die Bodenfauna der Alpen erschienen, die auch im wesentlichen das altangenommene Resultat bestätigt, daß der Löwenanteil an der Auflockerung, Verwitterung und Krümelung des Bodens den Lumbriciden und ihren Verwandten zufällt.

So konnte denn **R a m a n n**¹⁾ mit Recht in dem maßgebendsten Werk der Bodenkunde sagen, daß, wenn auch die Rolle der Tiere bei den obengenannten Vorgängen zweifelsohne eine bedeutende sei, doch bisher nur Untersuchungen über die größeren in Betracht kommenden Lebewesen vorliegen.

So ist es auch. In dem überaus reichen Schrifttum der landwirtschaftlichen Biologie klafft eine Lücke gerade an einem Punkte, der für wissenschaftliche und praktische Interessen von gleich großer Bedeutung zu sein schien. Untersuchungen in dieser Richtung versprachen reiches Ergebnis, und wurden im Biologischen Institut München vom Verf. seit mehr denn einem Jahre systematisch betrieben, nachdem mehrjährige vorbereitende Untersuchungen über die Verbreitung der in Rede stehenden Lebewesen vorausgegangen waren. In dieser vorläufigen Mitteilung soll nur eine allgemeine Orientierung über den Stoff gegeben und ein Teil der wesentlichsten Resultate niedergelegt werden, da die Ausarbeitung der endgültigen, von Abbildungen und Tabellen begleiteten Publikation voraussichtlich noch einige Zeit in Anspruch nehmen wird.

Die Bodenbakteriologie arbeitet im wesentlichen nach der Methode, daß die zu untersuchende Bodenprobe mit Wasser geschüttelt wird, das man sodann nach bakteriologischer Technik mit Nährgelatine versetzt und zu einer Kultur verarbeitet. Naturgemäß müssen dem Untersuchenden hierbei alle jene Organismen entgehen, die nicht auf Gelatine wachsen. Untersucht man dagegen den Boden unmittelbar mit dem Mikroskop, indem man kleine Proben schlämmt und sowohl den Bodensatz wie das hierzu verwandte Wasser Tropfen für Tropfen durchmustert, wird man zwar die Bakterien übersehen, dafür aber mit einer oft überraschend reichen Bodenflora und Fauna bekannt werden, die sich bisher fast gänzlich der Untersuchung entzog und vor allem noch niemals als Lebensgemeinschaft in ihrer Besonderheit erkannt und in ihrer ausnehmenden Bedeutung gewürdigt worden ist.

¹⁾ **R a m a n n**, E., Bodenkunde. 2. Aufl. 8° 140 pp. Berlin 1905.
Zweite Abt. Bd. 32.

Interessanterweise wurde ein, allerdings geringer Teil der in Rede stehenden Organismen schon vor mehr denn 70 und 55 Jahren durch den unermüdlichen G. Chr. Ehrenberg als Bewohner der Acker- und Wiesenerde erkannt¹⁾, und auch in P. E. Müllers Werk²⁾ findet sich eine gelegentliche Angabe, wonach *Arcella* und *Diffugia* verbreitete Bewohner des Rohhumusbodens sein sollen; auch ist es dem letztgenannten Forscher³⁾ klar, daß der Buchenmull die Wohnung einer Heerschaar dem bloßen Auge unsichtbarer Organismen aus dem Pflanzen-, wie dem Tierreiche sei, von denen, wie er sagt, wohl anzunehmen sei, daß nicht ein einziger ohne Bedeutung für die Hervorbringung des Mulls ist. Aber Ehrenberg war nicht mehr imstande, die Bedeutung seiner Entdeckung zu erkennen und Müller erklärt sich mangels Zeit und nötiger Voraussetzungen außer Stande, sich dem Studium dieser Organismen hinzugeben.

Soweit die Untersuchung der Erdproben von mehr als 135 Fundorten aus ganz Mitteleuropa ein Urteil gestattet, finden sich in allen Sorten fruchtbarer Erde, also sowohl im Acker-, Garten-, wie Wald- und Wiesenboden neben den bereits bekannten Bodenbakterien, Lumbriciden und Enchytraeiden ständig und bis in ansehnliche Tiefe (bis unter 1 m) in mehr oder minder großer Anzahl, meist jedoch massenhaft folgende Organismen:

Rhizopoda: *Diffugia urceolaris*
Diffugia globulosa
Diffugia constricta
Diffugia pyriformis
 5. *Trinema enchelys*
Euglypha alveolata
Euglypha globulosa
Phryganella sp.
Craterella terricola nov. gen. n. sp.⁴⁾
 10. *Amoeba limax*
Amoeba terricola
Amoeba verrucosa
Nebela collaris
Geococcus vulgaris nov. gen. n. sp.⁴⁾

Bacillariaceae: 15. *Navicula borealis*
Navicula nodosa
Navicula atoma
Navicula sima
Hantzschia amphioxys
 20. *Pinnularia* sp.
Nitzschia sp.

Schizophyceae: *Oscillatoria* sp.
Isocystis sp.

Chlorophyceae: *Mesotaenium caldarium*

Nematoda: 25. *Dorylaimus* sp.

Fungi: 26. *Cladosporium humifaciens*
 nebst einer größeren Zahl von noch nicht eingehender studierten verwandten Formen und Unterspezies, namentlich aus den Gattungen *Diffugia*, *Amoeba*, *Navicula*, *Oscillatoria* und der Gruppe der *Nematoden*.

Außer den genannten Organismen finden sich, namentlich in den obersten Erdschichten, regelmäßig auch noch die verschiedensten Bacillariaceen,

¹⁾ Ehrenberg, G. Chr., Mikrogeologie. Leipzig 1854 u. Die fossilen Infusorien u. d. lebendige Dammerde. Berlin 1837.

²⁾ Müller, P. E., Studien über die natürlichen Humusformen. Berlin 1887.

³⁾ Ibidem. p. 14.

⁴⁾ Beschreibungen der neuen Formen erfolgen in der ausführlichen Publikation.

Schizophyceen, Desmidiaceen, Rhizopoden, Flagellaten, Rotatorien, Tardigraden und selbst Ciliaten, zum Teil solche, die der neuerdings eifriger studierten Moosfauna- und flora angehören; es sind dies zum Teil auch jene Formen, die in algologischen Werken unter den Bezeichnungen terricol und muscicol als Bewohner feuchter Erde, Mauern und Felswände angeführt werden, allerdings auch noch nicht eingehender in ihrer pedologischen Bedeutung gewürdigt worden sind.

Sie dürfen in keiner Weise verwechselt und zusammengeworfen werden mit dem rein subterrestrischen Organismenverein, der durch besondere Eigenheiten ausgezeichnet, als Gegenstück des wasserbewohnenden Planktons durch die Bezeichnung *Edaphon* charakterisiert werden soll, während man jene, sich nur gelegentlich in das *Edaphon* mischenden und nur in einer oberen Grenzzone (entsprechend dem *Necton*) mit ihm vergesellschafteten Organismen als die der *Überflutungszone* bezeichnen darf.

Das Recht, die edaphischen Organismen, von denen die Gattungen *Navicula*, *Hantzschia*, *Diffugia*, *Trinema*, *Euglypha*, *Geococcus*, *Cladosporium* und die Nematoden als Leitformen sozusagen in jedem Körnchen des vegetationsernährenden Bodens verbreitet sind, zu einer besonderen Lebensgemeinschaft zusammenzufassen, ergibt sich aus den einheitlichen und ganz bestimmten Anforderungen, die ihre Umgebung an sie stellt und denen ihre Anpassungen gewachsen sein müssen. Diese sind namentlich völliger (oder fast völliger) *Lichtmangel*, während die Überflutungsformen durchaus im Lichte leben. Ferner ist ihnen in nicht allzuschroffem Wechsel mittlere Feuchtigkeit geboten, während die Überflutungsformen eigentlich kein anderes Leben führen, als die Tange der Uferregion des Meeres; eine Periode völligen Wasserlebens wechselt mit einer solchen völliger Trockenheit. Demgegenüber sehen sich die edaphischen Organismen in einer völlig neuen Lage, deren physikalische Bedingungen noch zu erforschen sind, wie denn die Existenz der Geobionten überhaupt auf eine besondere natürliche Struktur des Bodens hinzudeuten scheint.

Besondere und von den verwandten Wasserorganismen abweichende Bedingungen stellen ihnen auch die Temperaturverhältnisse. Ihr Verbreitungsgebiet fällt in zwei Zonen, in jene, die dem Bodenfrost bereits nahezu entrückt ist, und in eine obere, in der ihnen alljährlich die Lebensbedingungen mehrwöchentlich durch das Gefrieren des Bodens erschwert werden.

Aus alledem entsteht eine besondere Lebenslage, die noch viel schärfer umrissen ist, wie die des Planktons und die einheitliche Betrachtung des *Edaphons* mehr als rechtfertigt, umsomehr als diese Lebensgemeinschaft, zu der naturgemäß auch die Bodenbakterien und die Lumbriciden gehören, in ihrer Erhaltung auch zum Teil auf einander angewiesen ist. Die pflanzlichen Geobionten ernähren sich saprophytisch, soweit sie nicht assimilieren; die tierischen sind Bakterien- und Pilzzehrer, wie sich von einem Teil der Rhizopoden herausstellte, die wieder selbst den Würmern zur Nahrung dienen. Auch hierin schließt sich der Kreis des Aufeinanderangewiesenseins, der zu dem Begriff einer Lebensgemeinschaft gehört.

Der eigenartigen Lebensweise entsprechen auch tatsächlich eigenartige Anpassungen.

Als solche muß vor allem die unzweifelhaft nachgewiesene Assimilation der Kiesel- und Spaltalgen bei fast völligem Lichtabschluß gelten. Namentlich in Betracht kommen hierbei die Gattungen *Oszillatoria*, *Hantz-*

schia, Navicula und Nostoc, die in Tiefen von 2½ dm bis unter 1 m in Wiesen und Ackerboden nachgewiesen wurden. Das Problem hat allerdings insofern nichts befremdliches, als ja neuerer Zeit verschiedentlich gezeigt wurde, daß Algen auch im Dunklen assimilieren. Was aber da und dort nur als Kuriosum erscheint, ist hier die allgemein verbreitete Regel.

Inwieweit bei den edaphischen Algen die saprophytische Ernährung eine Rolle spielt, bleibt späteren Forschungen vorbehalten. Solche ist für Bacillariaceen bekannt und wird von Beijerinck auch für Cyanophyceen behauptet.

Eine ganz ausgesprochene Anpassung an die edaphische Lebensweise ist jedoch in den bei den Geobionten so überaus häufig zu findenden Gehäuse- und Schalenbildungen zu erblicken. Es genügt, hier an die beschalteten Rhizopoden und die Bacillariaceen zu erinnern, deren Schutzmittel gegen Austrocknung hierdurch in ganz neuem Lichte erscheinen, da die wasserbewohnenden Vertreter beider Gruppen dieser Anpassung praktisch eigentlich fast nie bedürfen. Es wird hierdurch die Vermutung geweckt, daß beide ursprünglich dem edaphischen Lebenskreis entstammen und erst sekundär in das Wasser eingewandert sind.

Über die besonderen Verhältnisse des Edaphons, soweit sie bereits geklärt sind, mögen hier nur die allgemeinsten Resultate vorgelegt werden, deren ausführliche Belegung der vorbereiteten, größeren Publikation vorbehalten bleiben möge. Es muß jedoch hierzu bemerkt werden, daß diese Ergebnisse, bei dem schwierigen und komplizierten Charakter der Untersuchungen auf solchem Neuland der Forschung, nur orientierenden Wert besitzen können.

1) Die Besiedelung des Bodens durch Geobionten steht in gesetzmäßigem Zusammenhange mit der Vegetation des Bodens, insofern als die Bacillariaceen die Leitformen des Ackerbodens sind (namentlich Navicula und Hantzschia), während Rhizopoden, (Diffugia, Trinema, Geococcus, Euglypha), Cladosporium und Nematoden den Waldboden charakterisieren. Wiesenboden scheint eine vermittelnde Stellung einzunehmen.

2) Die Art der Kulturpflanzen bei Kartoffel-, Weizen-, Roggen- und Rübenacker, sowie Kleefeldern ergab keine klaren Unterschiede im entsprechenden Edaphon. Dagegen ergaben sich im Waldboden Unterschiede vornehmlich in quantitativer Hinsicht. Am reichsten besiedelt (auch durch hervorragend große Formen ausgezeichnet) ist Urwaldboden (a. d. Alpen), in dem die Zahl der Geobionten pro ccm über 150 000 steigen kann. Hierauf folgen in absteigender Reihe: Buchenwald (Mull), Eichenwald, Kulturmischwald, Latschenboden (Krummholzzone d. Alpen), Auwald und Fichtenwald (Rohhumus), der mit 15 000 Geobionten pro ccm das Minimum darstellt. Der Auwald bietet Sonderverhältnisse, die an Wiesenboden erinnern.

3) Die Besiedelung des Waldbodens steigert sich mit den Faktoren, die den Boden für Hygrophyten geeignet machen, desgleichen mit der Humusbildung. Im Urwaldhumus treten wahre Reinkulturen auf, desgleichen Amoeba, Nebela, Arcella, Pseudochlamys. Es scheinen also die physikalisch-chemischen Verhältnisse des Bodens ausschlaggebend zu sein. Auf das deutet auch der Umstand, daß Mullböden (nach der Terminologie P. E. Müllers) durchschnittlich 27mal organismenreicher sind als Rohhumusböden; sie kennzeichnen sich durch Rhizopoden (namentlich Diffugien) und große Formen.

4) Auf das gleiche deutet der Zusammenhang zwischen der geologi-

schen Beschaffenheit des Bodens und dem Edaphon. Der ärmste Boden ist Kalk (Muschelkalk von Schwäbisch-Hall, Hauptdolomit, Wettersteinkalk in Bayern) mit einer Besiedelung von durchschnittlich 1500 Geobionten pro ccm. Hierauf folgen in aufsteigender Reihe Sandstein-Urgebirgsböden (Glimmerschiefer, Phyllit), mergeliger Lehm, Moorboden, sehr fruchtbare Sandböden, die mit durchschn. Besiedelung von 61 500 pro ccm das Maximum erreichen. Hierbei ergab sich das nicht unerwartete Resultat, daß Urgestein und sein Verwitterungsprodukt, Sandböden, die Bacillariaceen begünstigen, während diese im kalk- und humussäurereichen Boden stark zurücktreten.

5) Auf rein physikalische Faktoren verweisen die Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Wassergehalt des Bodens und dem Edaphon. Als Hauptsatz ließ sich hierbei gewinnen, daß mit zunehmendem Wassergehalt die Zahl und Mannigfaltigkeit der Formen steigt. Bezüglich des Wiesenbodens fand sich der größte Reichtum mit 300 000 Individuen pro ccm in gewesenen Sumpfböden (feuchte Wiese), dann folgen in absteigender Reihe Moorböden, moosige Wiesen, Weiden, sonnige Grasfluren auf Berghängen, Triften; am ärmsten mit 1—3000 Geobionten pro ccm sind vegetationslose, sonnige, sandig-lehmige Stellen.

6) Auf das Gleiche deutet ferner die Phaenologie des Edaphons.

Die wichtigsten Einsichten hierin sind: Die Bacillariaceen erwachen am ersten, ebenso die Schizophyceen, beide finden sich sogar in gefrorenem Boden lebend. Das allgemeine Erwachen der Kieselalgen erfolgt Ende Januar. (Es treten um diese Zeit sogar grüne Schwärmer auf!) Die Rhizopoden erwachen später. Am 16. März 1911 war voller Bodenfrühling. Die günstigen Lebensverhältnisse dauern bis Oktober. Anfangs Oktober finden sich bereits viele Zysten im Boden, im November enzystieren sich die Amöben, im Dezember *Diffugia* und *Trinema*. Die Kieselalgen vegetieren, bis die Fröste sie töten.

Die Jahreskurve verläuft, wie folgt: Das Winterminimum erreicht seinen tiefsten Stand im Dezember, das erste Maximum wird im März, das absolute im Mai-Juni erreicht. Hierauf sinkt die Zahl, bis die Herbstregen im Oktober wieder ein geringeres Ansteigen mit sich bringen. Mit den Nachtfrosten sinkt die Zahl sprunghaft.

7) Über den Einfluß der Dürre auf das Edaphon wurde folgendes ermittelt: Dürre wirkt auf die Geobionten ähnlich wie Frost (Encystierung). Am meisten leiden darunter Rhizopoden, weniger Bacillariaceen und Palmellaceen (*Pleurococcus* formen).

8) Der Einfluß der geogr. Höhe auf das Edaphon ist noch nicht ganz klar. Die absolute Zahl und Mannigfaltigkeit nimmt von 200—2780 m ab, wobei von 1250—1750 m die Abnahme besonders auffällig ist. Es herrschen verwickelte Verhältnisse; das Urgebirge verhält sich anders, als das Kalkgebirge, ebenso herrschen Sonderverhältnisse im Spaltenhumus der Kalkalpen. Über die Abnahme scheint jedoch namentlich die Dauer des Bodenfrostes zu entscheiden.

9) Die Tiefenverbreitung des gesamten Edaphons geht mit der der Bodenbakterien parallel. Bei einer Tiefe von $\frac{3}{4}$ —1 m hört die Besiedelung des Bodens sprunghaft auf. Von 49 Geobionten-Gattungen wurden 38 in der Überflutungszone (bis 2 cm Tiefe), 27 im eigentlichen Edaphon, tiefer als 2 dm gefunden. Die Hauptzone der Verbreitung befindet sich in 5 cm Tiefe,

doch fanden sich in Waldboden einmal bei $2\frac{1}{2}$ dm Tiefe noch immer 155 000 Geobionten im ccm, sonst allerdings nur durchschn. 6000—9000. Das Edaphon des Wald- und Wiesenbodens nimmt rascher ab, als das des Ackerbodens, der in 5 dm Tiefe noch von 21 000 Organismen pro ccm besiedelt sein kann. Hier scheint die künstliche Bodenbearbeitung ihren Einfluß geltend zu machen.

Insgesamt wurden aus dem reichen Material bisher an 50 Arten von Geobionten systematisch gesondert, was aber nur einen Bruchteil der Formenmannigfaltigkeit darstellt. Als durchschnittliche Besiedelung sind in den optimalen Regionen des Bodens

in guter Ackererde	50 000—100 000 Individuen pro ccm
in guter Wiesenerde	75 000—115 000 Individuen pro ccm
in guter Garten (Blumen)erde	30 000—100 000 Individuen pro ccm
in guter Walderde	100 000—150 000 Individuen pro ccm

nicht allzureichliche Annahmen¹⁾, da bei dem Durchmustern der Präparate auf dem Kreutztisch, auf dem diese Schätzungen beruhen, immerhin welche entgehen müssen.

Soll nach dem Vorgebrachten ein Urteil über die Bedeutung des Edaphons für den Haushalt der Natur und des Menschen gewagt werden, so muß man wohl zugeben, daß es sich hier um einen sehr wichtigen Faktor des Erdlebens handelt, dessen Bedeutung sich mit zunehmenden Einsichten noch über das steigern wird, was ihm schon jetzt zugeschrieben werden muß. Insofern eröffnet sich in der Edaphologie oder Geobiologie, wie man den hier eröffneten Wissenszweig wohl benennen kann, eine Disziplin, die in wissenschaftlicher und praktischer Beziehung sehr fruchtbar zu werden verspricht.

Einige ihrer Probleme wurden hier bereits gestreift, in folgendem sollen nur einige Ausblicke auf ihre praktische Bedeutung versucht werden.

Das Edaphon trägt zweifelsohne in außergewöhnlichem Maße zur chemischen Anreicherung und mechanischen Auflockerung des Bodens bei. Die Algen und Pilze nehmen als Saprophyten an der Bindung des Stickstoffs im Boden hervorragend Teil, und was Rhizopoden und Nematoden an Bakterien und Pilzen verzehren, machen sie wohl durch ihr Verdienst um die Lockerung, feinste Durchpflügung und Krümelung des Bodens wieder wett. Wichtig ist hierfür die Fähigkeit aktiver Ortsveränderung, die bei fast sämtlichen Geobionten hervorragend ausgesprochen ist. In diesem Lichte betrachtet, erscheint die sonst sinnlose Beweglichkeit der Oscillatorien und Kieselalgen als eine für das edaphische Leben unumgängliche Anpassung.

Der erhebliche Anteil des Edaphons an dem für die Landwirtschaft so bedeutungsvollen Vorgang der Nitrifikation geht bereits daraus hervor, daß Düngung mit Stallmist Wachstum und Vermehrung der Geobionten auf das Günstigste beeinflußt; auf das gleiche deutet ein Befund, daß der überdüngte Boden der „Lägerflora“ auf Alpentriften sich durch übermäßige Entwicklung des Edaphons auszeichnet.

Neben dieser Bedeutung kommt aber dem Edaphon zweifelsohne auch eine erhebliche Rolle in der Selbstreinigung des Bodens zu, ein Gebiet, das nicht weniger überraschende hygienische Perspektiven aufreißt, wie vor Jahren die Erkennung der sapropelen Organismen dem Abwasserchemiker. Welch nennenswerte Arbeitsleistung das Edaphon im Boden

¹⁾ Hierbei sind, wie bei allen obigen Angaben Bodenbakterien und Großwürmer ausgeschlossen.

schaft, kann man sich schließlich zahlenmäßig klarmachen, wenn man seine Tätigkeit mit der allgemein anerkannten großen Wichtigkeit der Bodenbakterien vergleicht. Nach R a m a n n kommen auf 1 ccm Mullboden 2 460 000 Bakterien, auf 1 ccm Rohhumusboden nur 220 000 Bakterien. Diese entsprechen bei der Annahme von durchschn. 1 μ Länge, 0,3 μ Dicke und Breite einem lebendig wirksamen Quantum von 198 000—2 214 000 Kubikmikron, während das übrige Edaphon, wenn man 100 000 Geobionten pro ccm von nur 10 μ Länge, 5 μ Breite und Dicke annimmt, mehr als dem 10fachen lebendigen Quantum, nämlich 25 000 000 Kubikmikron gleichkommt.

Es eröffnen sich demnach für Land- und Forstwirtschaft durch die Vertiefung dieses neuen Wissenszweiges sehr erfreuliche Möglichkeiten, zu deren Ausbau das meiner Leitung unterstehende Biologische Institut in München (Städt. Schulgebäude an der Martin Greifstraße) sich als Arbeitsstätte spezialisiert hat.

Nachdruck verboten.

Über die Konsistenz der Käsemasse bei Edamerkäsen.

[Mitteilung der Reichslandw. Versuchsstation Hoorn, Holland.]

Von Dr. W. van Dam.

Mit 3 Fig. i. Text.

Einleitung.

In einer vorhergehenden Mitteilung¹⁾ habe ich gezeigt, daß die anfänglich schnelle Lösung des Käsestoffs bei der Käsereifung ihre Erklärung findet in der Wirkung desselben Fermentes, das die Gerinnung der Milch verursacht; die stark verdauende Wirkung des Labs in bezug auf Parakasein war bis dahin unbekannt geblieben. Es wurde gefunden, daß die Geschwindigkeit der Milchgerinnung sowie die Verdauung des Käsestoffs bzw. des Käses zunimmt mit der Konzentration der H-Ionen der Milch, und zwar zeigte sie sich dieser Größe proportional. Die Milchsäuregärung im Käse stützt also in hohem Maße die Verdauung des Parakaseins, welche bei Abwesenheit von Bakterien vorschreitet bis zur Erreichung eines Gleichgewichtszustandes. Es lag nun auf der Hand, anzunehmen, daß in der Vermehrung der löslichen Stickstoffverbindungen die Ursache der im Anfang schnell zunehmenden Plastizität zu suchen war. Ich meinte also, das Weich- und mehr Homogenwerden der Käsemasse diesem Umstande zuschreiben zu können. Als ich aber tiefer in das Wesen der bei der Reifung sich abspielenden Prozesse eindrang, zeigte sich mehr und mehr, daß die Verdauung des Käsestoffs unmöglich als der einzige Grund für die Bildung der typischen Struktur angesehen werden kann. So fand ich z. B. für zwei Käse, an demselben Tage aus derselben Milch, aber in verschiedener Weise bereitet, vollkommen gleichen Gehalt an löslichen stickstoffhaltigen Verbindungen, während der eine von ausgezeichneter Konsistenz, der andere dagegen sehr „kurz“ sich zeigte. Aus meinen technischen Versuchen²⁾ über den Einfluß der Bearbeitung des Bruchs auf die Bildung von kleinen Rissen (ein typischer Fehler bei Edamerkäsen) war schon früher hervorgegangen, daß die größere oder geringere

¹⁾ Enzym-chemische Studien über die Edamerkäse-Reifung. (Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. II. Bd. 26. 1910. p. 189.)

²⁾ Verslagen van landbouwkund. onderzoek. der Rykslandbouw proefstat. No. 8.

Plastizität über das Auftreten oder Nichtauftreten dieses Mangels entscheidet, und ich entschloß mich daher, genau zu untersuchen, durch welche Umstände die Struktur der Käsemasse beeinflusst wird. Die Resultate dieser Untersuchung sind auf den folgenden Seiten mitgeteilt; um die etwas verwickelte Sachlage richtig verstehen zu können, muß eine kurze Angabe früherer Untersuchungen vorangehen.

Frühere Untersuchungen.

Die Frage nach den Ursachen der Plastizität der Käsemasse wurde zuerst im Jahre 1902 in Angriff genommen von den amerikanischen Chemikern L. L. van Slijke und E. B. Hart¹⁾, und zwar für Cheddarkäse. Diese Forscher fanden, daß beim Auslaugen mit Wasser die zurückbleibende Masse sich größtenteils in 5-proz. NaCl löst. Beim Ausarbeiten der Frage nach der Art der Verbindungen, die sich in einer solchen Kochsalzlösung zu lösen vermochten, machten sie eine Reihe von Versuchen, die zu der Auffassung führten, die im ersten Stadium der Reifung entstehende Milchsäure bilde zuerst mit dem Parakasein ein in 5-proz. NaCl-Lösung lösliches Parakaseinmonolaktat, das bei weiterer Säurebildung in das Bilaktat übergehe, welches unlöslich sein solle. So wurde z. B. beim Hinzufügen der Milchsäure zu frischem, ausgewaschenem Bruch (25 g) gefunden:

Zuges. Milchsäure	Proz. vom Gesamt-N gelöst
0,5 g	44,72
1 g	2,17
1,5 g	1,62

Durch Zusatz von 0,5 g Säure war also hauptsächlich Mono-, durch die größeren Quantitäten vorwiegend Bilaktat gebildet. Die Autoren waren der Meinung, die am meisten typischen Eigenschaften des Bruchs (das Resultat der sogenannten „hot iron test“, d. h. die Eigenschaft, bei Berührung mit einem erhitzten Stück Eisen lange, seidenartige Fäden zu bilden, die Plastizität usw.) seien der Bildung von Parakaseinmonolaktat zuzuschreiben. 1905 folgte aber eine zweite Abhandlung²⁾, in welcher auf die im Jahre 1902 ausgesprochene Auffassung zurückgekommen wird. Durch neue Versuche wurde festgestellt, daß die vorher als Parakaseinmonolaktat angesehene Verbindung, das säurefreie Parakasein, das früher Bilaktat genannte, das Monolaktat war. Das reine, säurefreie Parakasein sollte also wohl, das Parakasein(mono)laktat aber nicht löslich sein in 5-proz. Kochsalzlösung.

Über den Zusammenhang der Resultate ihrer Untersuchungen mit den beim Cheddarkäse während der Bereitung und im ersten Reifungsstadium auftretenden Änderungen sagen die Autoren folgendes, das ich in extenso zitiere, weil es den Kern der Frage berührt, über deren Lösung ich auf den folgenden Seiten zu berichten mir erlaube.

„In the manufacture of cheddar and similar types of cheese, after the addition of rennet enzyme and coagulation, there takes place a progressive change, resulting in the production of increased amounts of a proteid soluble in warm 5 per cent solution of sodium chloride. This product may amount, in fresh cheese, to 75—80 per cent of the proteids present. We were led by the former work to interpret these fact as follows: Lactic acid, formed by the lactic fermentation of milksugar, combines with the paracasein of the curd, forming paracasein monolactate, insoluble in water but soluble in

¹⁾ Amer. Chem. Journ. Vol. 28. 1902. p. 411.

²⁾ Amer. Chem. Journ. Vol. 33. 1905. p. 461.

warm 5 per cent salt solution and in hot 50 per cent alcohol. In the light of the results of more recent work, this interpretation must be modified and the observed facts appear to be explained correctly in the following manner: The coagulum following the addition of rennet enzyme to milk is calcium paracasein, either mixed or loosely combined with soluble calcium salts. While lactic acid is being formed in the cheese-making process, it combines with the calcium of the calcium paracasein, forming free paracasein and calciumlactate. The conditions of manufacture are so controlled that, normally, not enough is produced to convert all the calcium paracasein to base-free paracasein. The proteids of the curd are, therefore, a mixture, in varying proportions, of calcium paracasein and free paracasein. It is the free paracasein that is soluble in warm 5 per cent salt solution and in hot 50 per cent alcohol; and it is this body that has the characteristic property of being drawn out in fine, silky threads, when touched with a hot iron. It is the free paracasein that imparts to cheese-curd its peculiar plastic and ductile properties, exhibited in the process known as „packing“ or „matting“. It is the free paracasein, therefore, that appears to be the substance in which the various chemical changes grouped under the general term of cheese-ripening begin to take place.

When, in the process of cheese manufacture, an excess of lactic acid is produced, 0,7—0,8 per cent, we have the product, familiarly known as cottage or Dutch cheese. It has a loose, granular structure and is insoluble in warm 5 per cent salt solution. In this case all the calcium of the calciumparacasein combines with lactic acid, after which additional amounts of free lactic acid formed unite, in a loose combination, with the free paracasein, producing paracasein lactae, which differs from free paracasein in a most marked manner in respect to its solubilities in dilute salt solution and hot alcohol and in its plasticity and ductility.“

Hieraus ist zu ersehen, daß die amerikanischen Forscher schon damals eine Erklärung für das auch bei Edamerkäse so überaus oft auftretende „Kurz“ gaben. Ein zu hoher Gehalt an Milchsäure würde die Bildung von Parakaseinlaktat herbeiführen, welches unlöslich ist in 5-proz. NaCl-Lösung, aus welcher junge Edamerkäse zur Hälfte bis ein Drittel bestehen.

Aber wieder zwei Jahre später¹⁾ widerrufen diese Forscher auch diese Auffassung infolge einer neuen Untersuchung der Veränderungen, die sich im ersten Reifungsstadium, unmittelbar nach der Bereitung in der Käsemasse, abspielen. Sie fanden nämlich, daß es in erster Linie die Calciumphosphate sind, die von der sich bildenden Milchsäure angegriffen werden²⁾, und nicht, wie sie früher annehmen zu müssen glaubten, der Parakaseinkalk, denn beim Ausziehen von jungen Käsen mit Wasser stellte es sich heraus, daß das Residuum kein Phosphat mehr, wohl aber Calcium enthielt, das sich mit dem Parakasein in 5-proz. NaCl löste.

Auf letzteren Aufsatz muß ich, in Zusammenhang mit meinen eigenen Untersuchungen, noch zurückkommen.

Soweit mir bekannt, sind die einzigen Forscher, die sich mit diesem Thema weiter beschäftigt haben, die Bakteriologen B o e k h o u t und O t t

¹⁾ Technic. Bull. New-York Agric. Exp. Stat. 1907. No. 4.

²⁾ In bezug auf diesen Befund sei daran erinnert, daß für Milch dasselbe gefunden wurde. Beim Zusatz von Säuren zur Milch werden zuerst die Phosphate angegriffen und erst nachher der Parakaseinkalk. (Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung. Zeitschr. f. Physiol. Chem. Bd. 58. 1909. p. 295.)

de Vries. 1907 veröffentlichten¹⁾ sie ihre erste Arbeit: „Über den Käsefehler „Kort“ (Kurz“), in der sie zu dem Schlusse kamen, daß zwei Ursachen für diesen Fehler bestehen. Erstens meinten sie, in Edamerkäsen eine große Menge freier Milchsäure annehmen zu müssen (17—23 g pro Käse von 2 kg); bei einem zu hohen Gehalt an freier Säure, wie er z. B. entstehen kann, wenn zu viel Molke (Milchzucker) im Bruch zurückbleibt (ungenügend Ausrühren), könnte man eine körnige Struktur erwarten. Sie sprechen von „Bearbeitungskurz“.

Zweitens suchten sie in der Verwendung von zu schnell arbeitenden Milchsäurebakterien eine Ursache der fehlerhaften Struktur. Sie führen eine Serie von Versuchen an, bei welchen immer „kurze“ Käse erhalten wurden, wenn die Milch geimpft war mit schnell säurebildenden Fermenten. Weil sich aber beim Analysieren dieser Käse herausstellte, daß die kurzen Exemplare auch mehr „freie Säure“ enthielten, könnte man als direkte Ursache der abweichenden Struktur auch für diesen Fall den zu hohen Säuregehalt betrachten.

Aus meinen Messungen²⁾ der Wasserstoffionen-Konzentration an Edamerkäsen hatte sich indessen³⁾ gezeigt, daß es keinen Grund gibt, „freie Säure“ in so großen Mengen im Käse anzunehmen. Schon wiederholt habe ich betont, daß das nicht Unterscheiden zwischen dem reellen (H-ionenkonz.) und dem potentiellen (Titergrad) Säuregrad zu groben Fehlern führt. Die oben angegebene Erklärung mußte also hinfällig und der Gegenstand von neuem in Angriff genommen werden, wobei den neuen Gesichtspunkten Rechnung getragen werden konnte. B. und O. d. Vr. konnten nun feststellen⁴⁾, daß ein großer Teil der entstandenen Milchsäure weder als solche, noch als Calciumsalz im Käse sich vorfand, und es mußte eine Bindung mit dem Eiweiß angenommen werden; sonst hätte ich nicht einen Gehalt an H-ionen von $\pm 0,8 \times 10^{-5}$ normal finden können.

Unbekannt mit den oben zitierten Schriften von van Slijke und seinen Mitarbeitern, in welchen auf die ursprüngliche Auffassung über die Art der Säurebindung durch Kasein zurückgekommen wurde, griffen Boekhout und Ott de Vries zurück auf die erste Arbeit van Slijkes und Harts zur Erklärung ihrer Versuchsergebnisse, und sie kamen zu folgenden Schlußfolgerungen:

1) Der Käsefehler „Kurz“ wird hervorgerufen durch die Bildung von Parakasein-Bilaktat.

2) Das Entstehen dieses Parakasein-Bilaktates wird gefördert durch eine zur Neutralisation der Milchsäure ungenügende Quantität Kalk.

3) Milch mit einem niedrigen Kalkgehalt hat eine Prädisposition zur Bildung „kurzer“ Käse.

Schließlich sei noch auf eine dritte Abhandlung dieser Forscher hingewiesen, in welcher die uns interessierende Frage zur Sprache kommt: Über zwei Käsefehler⁵⁾. Bei meiner schon oben zitierten Arbeit über die Ursache des Entstehens von Rissen in den jungen Käsen⁶⁾ hatte sich gezeigt, daß dieser Fehler in engem Zusammenhang steht mit der Struktur der Käsemasse. Boekhout und Ott de Vries fanden, daß die Käse von weicher

¹⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 750.

²⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 26. 1910. p. 189.

³⁾ Schon lange bevor ich die auf diesen Gegenstand bezügliche Abhandlung veröffentlicht habe, teilte ich meine Befunde den Kollegen Boekhout und Ott de Vries mit, damit sie die Richtung ihrer Arbeit ändern könnten.

⁴⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 24. 1909. p. 122.

⁵⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 98.

⁶⁾ l. c.

Konsistenz sich fast ganz in 5-proz. NaCl lösten; die härteren Exemplare lösten sich dagegen nur wenig. Als sie ihre Untersuchung weiter führten, kamen auch sie wieder zu dem Schlusse, die Risse hätten ihre Bildung der zu geringen Plastizität zu verdanken, die sie, wie wir oben gesehen, auf Rechnung des geformten Bilaktates stellen zu können meinten¹⁾. Und sie konnten wirklich zeigen, daß Herabsetzen der Konzentration der Milchzucker (durch Hinzugeben von Wasser zur Milch oder Nachwärmen mit Wasser statt Molke) die Bereitung von Käsen mit weichem Teige und ohne oder mit sehr wenig Rissen ermöglicht.

Diese kurze Übersicht der früher ausgeführten Untersuchungen läßt ein etwas tiefer gehendes Studium der Frage wünschenswert erscheinen, denn die von den holländischen Forschern gegebene Erklärung ist, wie schon oben gesagt, entlehnt aus einer Arbeit der amerikanischen Autoren, von der letztere schon längst zurückgekommen sind. Weiter bin ich der Meinung, daß aus der Tatsache, daß aus kalkarmer Milch kurze Käse entstehen, noch nicht geschlossen werden kann, daß das Neutralisationsvermögen der aus solcher Milch niedergeschlagenen festen Bestandteile kleiner ist, als bei Milch, die reicher an Kalkverbindungen ist. Es ist nämlich sehr gut denkbar, daß die Bildung kurzer Käse aus kalksaurer Milch dem höheren Gehalt an Molke zuzuschreiben ist, denn eine solche Milch gerinnt im allgemeinen langsamer, und der Bruch ist nur schwer genügend trocken zu erhalten. In den von Boekhout und Ott de Vries veröffentlichten Zahlen²⁾ liegt selbst für diese Auffassung einiger Grund. Vergleicht man nämlich den totalen N-Gehalt der normalen und der kurzen Käse, die sie bei ihrer Versuchsserie erhielten:

Normal,	Alter	2 Monate,	N (in $\frac{1}{10}$ n. S. pro g)	26,2
"	"	3 "	"	26,1
"	"	1 "	"	25,0
"	"	14 Tage	"	29,0
"	"	14 "	"	30,6
Kurz,	Alter	25 Tage	"	23,7
"	"	4 Wochen	"	23,0
"	"	4 "	"	23,2
"	"	14 Tage	"	23,0
"	"	14 "	"	23,4

so folgt daraus, daß durchschnittlich der N-Gehalt der kurzen Käse bedeutend geringer ist, als derjenige der als normal bezeichneten. Zwar muß man Rücksicht auf das Alter nehmen, aber auch dann fallen die Zahlen zugunsten der Käse von normaler Konsistenz aus. Wenn man nun sowohl den Kalk- als auch den Stickstoffgehalt niedriger findet bei den kurzen Käsen, so muß die Möglichkeit zugegeben werden, daß solche Käse mehr Feuchtigkeit und damit mehr Milchzucker zurückgehalten haben.

Der hauptsächliche Grund, warum ich mich veranlaßt sah, den Gegenstand von einer anderen Seite anzugreifen, war der, daß die Frage unbeantwortet geblieben ist: Unter welchen Umständen ist es erwünscht, der Milch Wasser zuzugeben beim Verkäsen, um dem Auftreten von „Kurz“ vorzu-

¹⁾ Die Bemerkung in der Fußnote, v a n S l i j k e habe seine frühere Auffassung verlassen, um an ihrer Stelle die Annahme der Adsorption zu machen, ist nicht ganz richtig. In der von B. und O. d. V. zitierten Abhandlung von L. L. und D. D. v a n S l i j k e kommen diese Autoren zu dem Schlusse, es handle sich um Adsorption bei so geringer Milchsäurekonzentration, daß keine Lösung von Kasein stattfindet. Löst sich das Kasein, so nehmen sie Bindung der Milchsäure an.

²⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 24. 1909. p. 122.

beugen. An der hiesigen Versuchswirtschaft ist es nämlich vorgekommen, daß die Käse infolge von Wasserzusatz zur Milch so weich ausfielen, daß sie beim Aufbewahren ihre Form allzusehr änderten. Die Untersuchungen, über die unten berichtet wird, umfassen folgende drei Punkte:

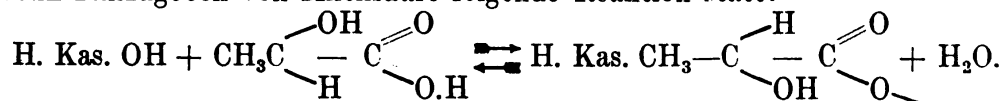
- 1) Die Bindung von Milchsäure durch Kasein.
- 2) Der Zusammenhang vom Bau der Käsemasse mit der Azidität und der Kochsalzkonzentration.
- 3) Das Neutralisationsvermögen der durch Lab aus Milch niedergeschlagenen Bestandteile.

I. Die Bindung der Milchsäure durch Kasein.

Aus Untersuchungen von Boekhout und Ott de Vries¹⁾ ist in Zusammenhang mit der von mir bestimmten Wasserstoffionenkonzentration in reifendem Edamerkäse hervorgegangen, daß in einem Käse viel weniger Calciumsalze gelöst werden, als mit der Quantität der gebildeten Milchsäure übereinstimmt. Daraus ist also zu schließen, daß eine ziemlich große Menge dieser Säure auf andere Weise gebunden wird, als durch die unlöslichen Calciumsalze. So wurde gefunden, daß in einem Käse, in dem 58 g Milchsäure gebildet waren, die Menge der in Lösung übergeführten Calciumverbindungen äquivalent war mit nur 38 g Säure. Es mußten also 20 g in anderer Weise gebunden sein. In erster Linie war also nachzuweisen, in welchem Maße das Kasein bzw. Parakasein diese Säure zu binden vermag.

Zu diesem Zwecke bestimmte ich die Wasserstoffionenkonzentration einer Milchsäurelösung und nachher dieselbe Größe, nachdem zu dieser Lösung verschiedene Mengen von Kasein hinzugegeben waren. Aus der Verringerung der Wasserstoffionenkonzentration konnte dann die Menge der an Kasein gebundenen Milchsäure berechnet werden.

Schreiben wir nämlich das amphotere Kasein: H. Kas. OH, so findet beim Hinzugeben von Milchsäure folgende Reaktion statt:



Das Kaseinlaktat dissoziiert sich in Kaseine- und Milchsäureionen; außerdem enthält die Lösung infolge des angewandten Überschusses von Milchsäure auch Wasserstoffionen. Für eine vollständig dissoziierte Säure, z. B. HCl, würde die Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration beim Hinzusetzen einer bestimmten Menge Kasein gleich die am Kasein gebundene Säure darstellen. Dem ist aber nicht so, denn die Milchsäure ist bekanntlich nur wenig dissoziiert. Beim Hinzufügen von Kasein wird also das Dissoziationsgleichgewicht zerstört, und infolgedessen werden von neuem Molekeln der Säure in Ionen zerlegt. Nach dem Massenwirkungsgesetz gilt nun bekanntlich folgende Gleichung für eine Lösung, in der sich Wasserstoffionen nebst Milchsäureionen vorfinden:

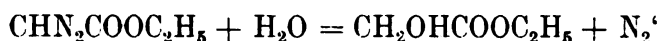
$$\frac{C_{\text{H}} \times C_{\text{M}}}{C_{\text{HM}}} = K.$$

in dem C_{H} , C_{M} und C_{HM} vorstellen die Konzentrationen bzw. von Wasserstoff- und Milchsäureionen und nicht gespaltenen Milchsäuremolekeln; K ist die Dissoziationskonstante. Wählen wir als Ausgangslösung eine bestimmte

¹⁾ L. a.

Milchsäurekonzentration, z. B. 0,05 n., und finden wir nach der Vermischung mit einer gewissen Menge Kasein die Wasserstoffionenkonzentration C_H , so kann bei bekannter K die Größe C_M berechnet werden, wenn man die für verdünnte Lösungen vollkommen gestattete Annahme macht, das Milchsäurelaktat sei ganz in seinen Ionen dissoziiert. Wir können für diesen Fall nämlich schreiben: $0,05 - C_M = C_{HM}$, und C_M kann also aus der obigen Gleichung berechnet werden. Ein Teil von C_M ist nun aber äquivalent mit C_H ; weil die Milchsäure eine einbasische Säure darstellt, ist dieser Teil gleich C_H zu stellen. Die Konzentration der Milchsäureionen, die vom Kaseinlaktat stammen, beträgt also $C_M - C_H$, und dies ist der Wert von der am Kasein gebundenen Milchsäure.

Ich hatte also von einer Milchsäurelösung, in die zunehmende Mengen Kasein gelöst wurden, die Wasserstoffionenkonzentration zu messen. (Über den Wert der Dissoziationskonstante siehe unten.) Zu diesem Zwecke habe ich, statt die früher beschriebene elektrische Methode¹⁾, die für die hier in Betracht kommenden höheren Konzentrationen weniger genau ist, die Arbeitsweise Bredigs gewählt, welche auf der Eigenschaft der H-Ionen beruht, die Zersetzung des Diazoessigesters durch Wasser unter Bildung von Stickstoff und Glykolsäureester katalytisch zu beschleunigen. Bredig zeigte, daß die Geschwindigkeit der Zersetzung dem Wasserstoffionengehalt der Flüssigkeit proportional ist.



Die Reaktion verläuft streng nach der ersten Ordnung; für konstante Temperatur gilt also die Gleichung:

$$\frac{dx}{dt} = K(A - x). \text{ oder integriert, die Reaktionsgeschwindigkeit:}$$

$$K = \frac{1}{0,4343 \cdot t} \log. \frac{A}{A - x}.$$

K ist dem Gehalte an H-Ionen proportional.

Die Ausführung der Versuche gestaltet sich wie folgt²⁾:

In einem kurzhalsigen Kölbchen von ca. 50 ccm Inhalt wurden 20 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit in den Thermostat gestellt, bis Temperaturgleichgewicht eintrat, dann wurde 0,2 ccm des reinen, frisch destillierten Diazoessigesters zugegeben. Das Kölbchen wurde mit einem Gummistopfen mit Kapillarrohr verschlossen und mittels der von Walton³⁾ beschriebenen Vorrichtung durch einen kleinen Motor regelmäßig geschüttelt. Nach 5 bis 10 Minuten wurde die Kapillare mit dem oberen Teile eines genau geachten Burets verbunden, der von einem Mantel fließenden Wassers umgeben war, zwecks Erhaltung einer konstanten Temperatur. Der untere Teil wurde mit einem Druckrohr verbunden. In jedem Moment (mittels Chronometer zu bestimmen) kann die entwickelte Gasmenge gemessen werden. Statt die Größen A und $A - x$ in Esterkonzentrationen auszudrücken, kann man natürlich für A die im ganzen entwickelte Stickstoffmenge, für $A - x$ das in der

¹⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 26. 1910. p. 189.

²⁾ Für die Details bezüglich Bereitung und Aufbewahrung des Esters, Behandlung der Kölbchen mit Paraffin, Schüttelthermostat usw. siehe: Verhandl. d. Naturhist.-med. Ver. Heidelberg. N. F. Bd. 9.

³⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 47. 1904. p. 188.

Zeit t entwickelte Gasvolum setzen. Der Wert von A wurde in meinen Versuchen aber nicht berechnet aus der hinzugesetzten Menge des Esters, sondern empirisch bestimmt, d. h. das Gasvolum wurde gemessen, nachdem ich mich überzeugt hatte, daß die Reaktion beendet war. Natürlich wurde das Volum umgerechnet auf die Temperatur des Kühlwassers und den Barometerstand während des Versuchs.

Die in den späteren Tabellen aufgezeichneten Werte für K sind Mittelwerte aus 8 oder 9 Beobachtungen. Aus folgender, ganz willkürlich aus einer größeren Zahl von Messungen gewählten Versuchsreihe geht hervor, daß die Methode sehr zuverlässige Resultate gibt:

T a b e l l e I.

0,5 g Kasein pro 100 ccm $\frac{1}{20}$ n. Milchsäure. $T = 18^\circ \text{C}$ $A = 27,45$ ccm.

Zeit in Min.	$A - x$	0,4343 K
2	25,77	0,0137
7	22,0	(110)
13	18,3	135
15	17,1	137
21	14,1	138
28	11,3	137
37	8,5	137
47	6,3	135
67	3,25	130

Mittel 0,0137

Zur Prüfung der Reinheit der Milchsäure (M e r c k) bestimmte ich in bekannter Weise die molekulare Leitfähigkeit, und fand 18,6 bei 18°C . Bei unendlicher Verdünnung wird aus den Geschwindigkeiten von Wasserstoff- und Milchsäureion bei 18° gefunden:

$$\mu_\infty = 318 + 32^1) = 350,$$

also für den Dissoziationsgrad

$$\alpha = \frac{18,6}{350} \text{ oder } 5,31 \text{ Proz.}$$

Auch durch die Messung der obengenannten Zersetzungsgeschwindigkeit des Diazoessigesters durch $\frac{1}{20}$ n. Milchsäure wurde die Ionisation bestimmt. So wurde gefunden:

T a b e l l e II.

 $A = 28,6$.

Zeit in Min.	$A - x$	0,4343 $\frac{1}{t} \log \frac{A}{A - x}$
2	25,9	0,0215
4	21,5	213
6	18,15	218
10	15,45	215
14	12,4	213
19	11,0	218
25	8,0	221
32	5,55	222

Mittel 0,0217

Für eine HNO_3 -Lösung 0,00197 n., die also als vollständig dissoziiert angesehen werden kann, fand ich $K = 0,0162$. Daraus berechnet sich die Wasserstoffionenkonzentration der $\frac{1}{20}$ n. Milchsäure zu $\frac{217}{100} \times 0,00197 = 0,00264$ n. oder 5,28 Proz. dissoziiert. Diese Zahl ist zwar in Übereinstimmung mit der aus der Leitfähigkeit gefundenen, sie ist aber bedeutend

¹⁾ Aus dem Na-Salz. Kohlrausch und Holborn.

höher, als die von Ostwald¹⁾ für diese Konzentration der Milchsäure mitgeteilte Ziffer, nämlich 5,00 Proz. bei 25° C. Darum habe ich erstens den von mir gefundenen Wert für 0,00197 n. HNO₃ verglichen mit der aus Bredig's Zahlen für diese Konzentration berechneten. Bredig arbeitete bei 25° C und fand aus der Gleichung von v. t Hoff-Arrhenius für die Temperaturkonstante 8869. Mittels dieser Zahl fand ich für 0,4343 K bei 18° C 0,0161 für die verwendete HNO₃-Konzentration, also in ausgezeichneter Übereinstimmung mit den vorher gefundenen Ziffern. Ein Fehler bei der Titerstellung war also sehr unwahrscheinlich, es konnte also zur Erklärung der Abweichung von Ostwald's Zahl nur an Verunreinigung der verwendeten Milchsäure gedacht werden. Um dies zu prüfen, bestimmte ich von neuem die molekulare Leitfähigkeit, jetzt aber von in Vacuo nach Krafft destillierter Säure, und zwar in $\frac{1}{20}$ n. Konzentration, und weil sich Spuren von Verunreinigungen leicht erkennen lassen durch das nicht konstante Ausfallen der Dissoziationskonstante, auch von $\frac{1}{40}$, $\frac{1}{80}$, $\frac{1}{160}$ und $\frac{1}{320}$ n. Säure.

Aus der bekannten Gleichung: $\frac{\mu_v}{\mu_\infty (\mu_\infty - \mu_v)} = K v$ wurden die in Tabelle III aufgezeichneten Zahlen gefunden.

Tabelle III.

T = 18° C. $\mu_\infty = 350$.

v	μ	$K \times 10^6$
20	18,5	147,7
40	25,9	148,4
80	35,9	147,0
160	49,7	147,0
320	68,0	146,5

Mittel $147,3 \times 10^{-6}$.

Für $\frac{1}{20}$ n. Säure wurde also derselbe Wert gefunden als für die nicht destillierte Säure. Weiter zeigen die Zahlen für K nur sehr geringe Abweichungen, welche vollkommen durch die Versuchsfehler gedeckt werden. Bei meinen Berechnungen habe ich die Dissoziationskonstante der Milchsäure gleich 0,0001473 gesetzt. Ostwald fand bei 25° C 0,000138.

Tabelle IV gibt die Resultate der Messungen an $\frac{1}{20}$ n. Milchsäure bei Zusatz von zunehmenden Mengen Kasein. (Präparat von Merck, fünfmal nach Hammarsten gelöst und wieder gefällt.)

Tabelle IV. T = 18° C.

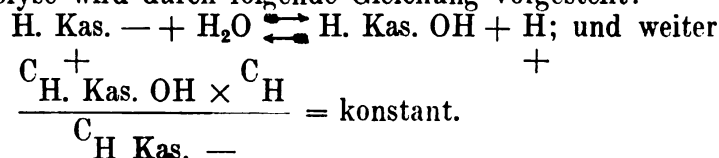
% Kasein	0,4343 K	$C_H \times 10^5$	$C_M \times 10^5$	mg Milchsäure gebunden pro 100 ccm	mg Milchsäure gebunden pro g Kasein
0,25	0,01715	209	320	10,9	43,2
0,5	0,0137	167	405	21,4	42,8
0,75	0,0113	138	482	30,9	41,2
1,0	0,0091	111	586	42,7	42,7
1,25	0,0082	100	643	48,9	39,1
1,75	0,0066	80,5	773	62,3	35,6
2,25	0,0053	65,1	923	77,2	34,3

Mittel 42,5

Aus dem letzten Stab geht hervor, daß die pro g Kasein gebundene Milchsäuremenge anfangs, bei überschüssiger H-Ionenkonzentration als kon-

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 3. 1889. p. 170.

stant betrachtet werden kann, nämlich 4,25 Proz.¹⁾ des Kaseins, um später abzunehmen. Ganz dasselbe Resultat fanden Bugarsky und Lieberman²⁾ für die Bindung von Salzsäure durch Albumin. Die am meisten auf der Hand liegende Erklärung für diese Tatsache ist wohl die, daß das Kaseinlaktat hydrolytisch gespalten wird, wenn zu wenig H-Ionen in der Flüssigkeit sich vorfinden, um die Hydrolyse zurückdrängen zu können. Die Hydrolyse wird durch folgende Gleichung vorgestellt:



Beim Wachsen von C_H ändert sich also das Verhältnis vom freien Kasein zum gebundenen zugunsten des letzteren. Ganz in Übereinstimmung mit dieser Auffassung ist das Aussehen der Lösungen. Während die in Tabelle IV bis 1,25 Proz. Kasein angeführten Flüssigkeiten vollkommen klar erschienen, zeigten die mehr Kasein enthaltenden eine mit der Konzentration deutlich zunehmende Opaleszenz, welche dem freien Kasein zugeschrieben werden muß.

Im Käse handelt es sich nun aber nicht um Kasein, sondern um Parakasein; darum wurde auch mit letzterer Verbindung eine Messung ausgeführt. Hierauf ist aber nicht derselbe Wert zu legen, denn es ist schwer, das Parakasein ebenso rein zu erhalten als das Kasein. Dasselbe Präparat, das für die oben beschriebenen Versuche diente, wurde in verdünnter Kalilauge gelöst bis zu schwach saurer Reaktion (Lakmus) und während einer Viertelstunde mit Lab bei 37° C gehalten. Der Verdauungsprozeß läßt sich mittels Chlorcalcium ziemlich gut kontrollieren. Das gebildete Parakasein wurde mit verdünnter Essigsäure gefällt, gewaschen, wieder gelöst usw. Nach dreimaliger Fällung wurde schließlich in bekannter Weise mit Alkohol und Äther behandelt. Für $\frac{1}{20}$ n. Säure mit 0,5 Proz. Parakasein versetzt fand ich:

0,4343 K	$\text{C}_\text{H} \times 10^5$	$\text{C}_\text{M} \times 10^5$	mg Milchsäure gebunden pro 100 ccm	mg Milchsäure gebunden pro g Parakasein
0,0134	164	412	22,3	44,6

Eine Menge von 4,46 Proz. des Käsestoffes wird also gebunden; diese Zahl weicht nur wenig ab von derjenigen, die wir oben für Kasein fanden.

Aus diesen Messungen geht also klar hervor, daß das Parakasein des Käses eine bedeutende Menge Milchsäure zu binden imstande ist. Um darüber urteilen zu können, ob diese Tatsache eine genügende Erklärung abgibt für meinen Befund³⁾, daß der Wasserstoffionengehalt der Edamerkäse viel niedriger ist, als übereinstimmen würde mit der von anderen Autoren gefundenen hohen Acidität, können wir von Boekhout und Otte Vries⁴⁾ veröffentlichte Zahlen heranziehen. Schon Seite 5 wurde gesagt, daß in einem Edamerkäse von 2 kg 17 à 23 g Milchsäure nicht an Calcium gebunden sind. Weiter findet man in jungen Käsen ± 25 Proz. Eiweiß.

¹⁾ Es drängt sich hier die Frage auf, ob nicht die von verschiedenen Forschern beobachtete Peptonisierung des Kaseins durch Milchsäurebakterien zurückgeführt werden muß auf einfache Lösung als Laktat. Versuche in dieser Richtung werden angestellt.

²⁾ Pflügers Arch. Bd. 72. 1898. p. 51.

³⁾ Dieses Centralblatt Abt. II. Bd. 26. 1910. p. 189.

⁴⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 24. 1909. p. 122.

Ein Käse von 2 kg enthält also 500 g Käsestoff und dessen Zersetzungsprodukte; nach den oben mitgeteilten Resultaten können also höchstens $500 \times 0,042 = 21,5$ g Milchsäure durch das Kasein gebunden werden. Diese Zahl stimmt also gut mit der von Boekhout und Ott de Vries gefundenen Menge überein, die nicht an Calcium gebunden ist, nämlich 17—23 g. Nun ist es allerdings sehr wohl denkbar, daß neben chemischer Bindung auch Adsorption von Milchsäure mit im Spiel ist; wenn dem so wäre, so könnte man die gefundene Übereinstimmung einigermaßen als einen Zufall betrachten. Ich glaube aber, daß die Resultate meiner Messungen des H-Ionengehalts der Edamerkäse ($0,7\text{—}1,2 \times 10^{-5}$ n.) in obenstehenden Erörterungen eine vollkommen genügende Erklärung gefunden haben. Man hat sich die Wirkung der bei der Milchsäuregärung auftretenden Milchsäure wie folgt zu denken: Im Anfange werden hauptsächlich die Phosphate von Calcium (und Magnesium) zersetzt, nicht aber der Parakaseinkalk, wie es einzelne Autoren gemeint haben. Man überzeugt sich leicht von dieser Tatsache, wenn man Milchsäure auf frischen, ausgewaschenen Bruch einwirken läßt. Wenn schon alle Phosphate gelöst sind, enthält der Bodensatz noch reichlich Calcium; dasselbe findet man beim Ausziehen von reifendem Käse mit Wasser. Die bei der Lösung sich bildenden H-Ionen werden zum größten Teil gebunden vom Parakasein; außer Calciumlaktat wird also auch das Salz des ersteren gebildet.

Wie aus dem folgenden Kapitel hervorgehen wird, ist der Bau der Käsemasse in erster Linie abhängig vom Verhalten dieses Salzes dem Kochsalz gegenüber, das beim Salzen und Pökeln vom Käse aufgenommen wird.

Schließlich möchte ich noch bemerken, daß die oben gezeigte Bindung von Säuren durch Käsestoff dafür spricht, daß in der Milch das Kasein teilweise als Phosphat gebunden ist, wie schon vor längerer Zeit Hammarsten vermutet hat; man könnte also ein Calciumphospho-Kaseinat in der Milch annehmen.

II. Der Zusammenhang vom Bau der Käsemasse mit der Acidität und der Kochsalzkonzentration der Käsefeuchtigkeit.

Wie ich schon oben zu bemerken Gelegenheit hatte, ist die Tatsache, daß man bald eine gute, etwas weiche, bald eine harte, spröde Käsemasse erhält, nicht genügend aufgeklärt. Nur dann, wenn das Wesen dieser auftretenden Verschiedenheiten eine Erklärung gefunden hat, kann ein Schritt weiter gegangen und daran gedacht werden, von einer Milch im voraus zu untersuchen, ob sie prädisponiert ist für „kurze“ Käse. Um darüber unterrichtet zu werden, welche Veränderungen in der Käsemasse die größere oder geringere „Quellung“ verursachen, habe ich anfangs versucht, das Dreikomponentensystem: Parakasein—Milchsäure—Wasser zu bearbeiten. Es zeigte sich aber alsbald, daß dabei solche zähe Flüssigkeiten auftreten, daß an Trennung der Phasen weiter nicht gedacht werden konnte. Dann habe ich als Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen ein Präparat gewählt, dessen Bereitung in einer vorhergehenden Arbeit¹⁾ schon mitgeteilt worden ist. 5 l scharf zentrifugierte frische Milch wurden bei $\pm 30^{\circ}$ C mit Lab versetzt; nach einer Viertelstunde trat Gerinnung ein. Die Masse wurde nun sogleich in 20 l kaltes Wasser gegossen, nach dem Absetzen wurde dekantiert und von neuem 20 l Wasser zugegeben. Nach sechsmaliger Wieder-

¹⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 26. 1910. p. 189.

holung dieser Operation, wobei möglichst schnell gearbeitet wurde, filtrierte ich durch Nesseltuch und verrieb die Masse mit Alkohol. Nach Filtrieren und Abwaschen mit 96-proz. Alkohol auf dem Saugtrichter wurde das erhaltene Produkt in Äther gebracht und schließlich gründlich mit Äther gewaschen. Bei sorgfältiger Arbeit wird ein staubfeines Präparat erhalten, das also aus Parakaseinkalk mit den unlöslichen Milchphosphaten zusammengesetzt ist. Gleiche Portionen wurden vermischt mit verschiedenen Mengen Milchsäure und 5 Proz. Kochsalz, und zwar so, daß die H-Ionenkonzentration der Lösungen im von mir früher für Edamerkäse gefundenen Gebiete lag, nämlich $\pm 10^{-5}$ n. Wie schon oben gesagt, enthält das Wasser des Käses auch ± 5 Proz. Kochsalz.

Bei den orientierenden Versuchen zeigte sich nun sogleich eine Erscheinung, die zu vermuten erlaubte, daß eine systematische Untersuchung besser zum Ziel führen würde. Beim Stehenlassen der verschiedenen Röhren mit Flüssigkeit zeigte sich nämlich alsbald, daß in den mehr sauren Lösungen der Käsestoff sich als feines Pulver, einem Niederschlag von kohlen-saurem Kalk ähnlich, zu Boden setzte, während in den weniger Säure enthaltenden Flüssigkeiten die Masse starke Aufquellung mit damit verbundener Auflösung zu schön blau opaleszierenden Lösungen zeigte. In den Röhren, die nur mit sehr wenig Milchsäure versetzt waren, fand ich die Quellung wieder weniger deutlich ausgesprochen. Es war also angebracht, den Versuch zu wiederholen unter genau zu beschreibenden Umständen, und z. B. auch die Kochsalzkonzentration zu variieren.

Ich arbeitete wie folgt:

In neun, innen paraffinierten Röhren wurden gleiche Quantitäten (1 g) meines Parakaseinkalkpräparates vermischt mit steigenden Mengen $\frac{1}{20}$ n. Milchsäure (CO_2 -frei). Dann wurde soviel Kochsalz zugegeben, daß beim Nachfüllen mit Wasser zu 50 ccm eine 5-proz. Lösung erhalten wurde. In einem großen Thermostaten wurden die Röhren während 48 Stunden¹⁾ regelmäßig rotiert bei einer Temperatur von $19,5^\circ \text{C}$ und nach dem Absetzen filtriert. In den Lösungen wurde das Parakasein nach Kjeldahl, die Wasserstoff-Ionenkonzentration elektrometrisch bestimmt. Die verschiedene Opaleszenz zeigte schon sogleich an, daß sich für eine bestimmte Menge der hinzugefügten Milchsäure eine maximale Menge Parakasein gelöst hatte. Tabelle V gibt die Resultate:

Tabelle V.
T = $19,5^\circ \text{C}$.

	ccm $\frac{1}{20}$ n. Milchsäure pro g	C_H	ccm $\frac{1}{10}$ n. H_2SO_4 nach Kjeldahl pro 25 ccm Filtrat
1	20,5	$1,5 \times 10$	3,9
2	18,5	$1,0 \times 10$	8,9
3	17,4	$0,79 \times 10$	19,1
4	15,8	$0,59 \times 10$	28,0
5	14,9	$0,49 \times 10$	30,9
6	13,3	$0,35 \times 10$	39,0
7	11,8	$0,28 \times 10$	38,25
8	10,0	$0,15 \times 10$	33,0
9	8,4	$0,05 \times 10$	29,3

Kurve I in Figur I zeigt den Zusammenhang der gelösten Mengen

¹⁾ Durch Versuche fand ich nach dieser Zeit nur noch eine ganz geringe Zunahme im Filtrate.

Käsestoff und der Wasserstoff-Ionenkonzentration. Dabei wurde also von der gewissermaßen willkürlichen Voraussetzung ausgegangen, die Lösung des Eiweißes in 5-proz. NaCl-Lösung sei eine Funktion der Wasserstoff-Ionen. Die folgenden Beobachtungen bilden eine Stütze für diese Meinung. Versetzt man die ziemlich konzentrierte Lösung (z. B. No. 6 aus der Tabelle) mit einer Spur Säure, so entsteht ein Niederschlag. Weiter wurde früher gefunden, daß die Wasserstoff-Ionenkonzentration in reifendem Edamerkäse sich bewegt zwischen $\pm 0,6$ und $1,2 \times 10^{-5}$ normal, und es zeigte sich dabei regelmäßig, daß die Konsistenz der Käsemasse härter, weniger geschmeidig wurde, je nachdem die H-Ionenkonzentration höher gefunden wurde¹⁾. Diese Konzentrationen liegen also vollkommen auf demselben Gebiete, das sich bei meinen Versuchen in vitro als maßgebend für die Lösung und damit gepaarte Quellung des Käsestoffes erweist.

Bedenkt man dabei, daß das Wasser im Käse bedeutend reicher ist an gelösten Kalksalzen, speziell Calciumlaktat, als meine Lösungen im Rohre, so ist auch darin ein Grund zu ersehen für die Annahme, die Löslichkeit bzw. Quellung des Käsestoffes in 5-proz. NaCl-Lösung sei eine Funktion der Wasserstoff-Ionen.

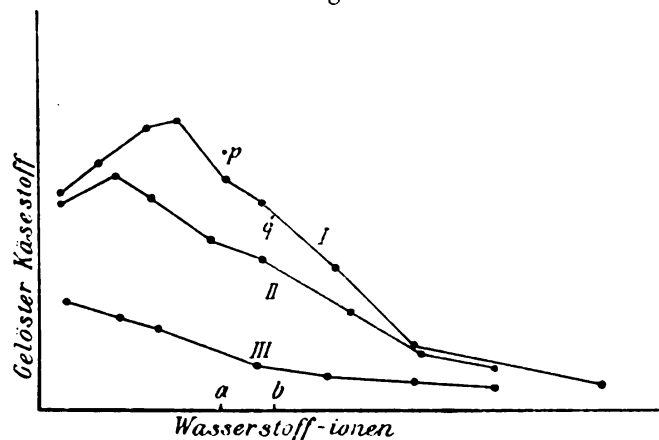
Schließlich habe ich noch ein paar Messungen

ausgeführt, die auf folgendem Gedankengang basieren: Üben die gelösten Salze in meinen Röhren einen deutlichen Einfluß auf die Löslichkeit des Käsestoffes aus, so konnte erwartet werden, daß beim teilweisen Entfernen dieser Salze für die Löslichkeit des Kaseins ein Punkt gefunden würde, der ganz außerhalb der Kurve I fällt. Um dies zu prüfen, wurde folgender Versuch gemacht:

1 g des Präparates wurde vermischt mit ± 15 ccm $\frac{1}{20}$ n. Milchsäure (also etwa wie bei 4 in der Tabelle) und mit Wasser angefüllt bis 50 ccm. Nachdem während einiger Stunden geschüttelt war, wurden nach dem Absetzen 25 ccm Flüssigkeit vorsichtig herauspipettiert und durch Wasser ersetzt. Dieselbe Operation wurde noch zweimal wiederholt, das letzte Mal aber Kochsalzlösung statt Wasser zugegeben, und zwar in solcher Konzentration, daß die Stärke wieder 5 Proz. betrug. Nun wurde wieder 48 Stunden geschüttelt bei $19,5^{\circ}$ C und gleichzeitig ein zweites Rohr angesetzt mit derselben Menge Milchsäure und Kochsalz, das aber sogleich hinzugefügt worden war, also ohne vorherige Entfernung der gelösten Salze. Für das erste Rohr

¹⁾ Schon in meiner vorhergehenden Abhandlung: „Enzymchemische Studien über die Edamerkäsereifung“ (l. c.) habe ich auf diese Tatsache hingewiesen, und ich fügte hinzu, daß nähere Untersuchungen lehren müßten, ob ein Zusammenhang besteht zwischen H-Ionengehalt und Plastizität der Käsemasse.

Fig. I.



war also die Konzentration der Kalksalze nur $\frac{1}{8}$ von derjenigen im zweiten. (Immer unter der Voraussetzung, daß durch das Hinwegnehmen der kalkhaltigen Flüssigkeit keine neue Menge in Lösung geht.)

Nach 48 Stunden wurde filtriert und gefunden:

Rohr I: 25 ccm Filtrat brauchten nach K j e l d a h l 35,1 $\frac{1}{10}$ n. Säure. $C_H = 0,48 \times 10^{-5}$
(a in der Figur I).

Rohr II: 25 ccm Filtrat brauchten nach K j e l d a h l 26,2 $\frac{1}{10}$ n. Säure. $C_H = 0,62 \times 10^{-5}$
(b in der Figur I).

Die Punkte p und q geben in Figur I die gefundenen Konzentrationen an. Wie ersichtlich, liegt Punkt p nicht genau in der Linie. Die Abweichung ist aber sehr gering, und ich glaube, auch aus diesem Resultate schließen zu können, daß es hauptsächlich die Wasserstoff-Ionenkonzentration ist, die Einfluß auf die Quellbarkeit des Kaseinlaktats ausübt beim Zusammenbringen mit 5 Proz. NaCl.

Auf einen Umstand bezüglich solcher Messungen möchte ich aber noch hinweisen. Anfangs wurde den Lösungen ein wenig Thymol zugesetzt zur Konservierung. Als ich aber später ein paar Versuche machte ohne diesen Zusatz, zeigte es sich, daß die Löslichkeit dadurch bedeutend gesteigert wurde. Auch Zusatz von Chloroform wirkt der Quellung entgegen; z. B. wurden für zwei Lösungen mit und ohne Chloroform gefunden 10,2 und 26,6 ccm $\frac{1}{10}$ n. H_2SO_4 nach K j e l d a h l. Meine Versuche wurden also ohne Antiseptikum ausgeführt. Herr B o e k h o u t hatte die Liebesswürdigkeit, ein paar Lösungen auf ihren Bakteriengehalt zu untersuchen. Von einer Zersetzung durch Bakterien konnte aber nicht die Rede sein.

Betrachtet man nun die Erscheinungen, die an einem reifenden Käse im ersten Stadium zu beobachten sind, im Lichte der oben mitgeteilten Resultate, so kommt man zu wichtigen Schlüssen. Schon auf der Presse wird infolge der Milchsäuregärung fast die ganze Milchzuckermenge zersetzt und demzufolge auch die Maximumkonzentration an H-Ionen erreicht. Nach dem Pressen wird gesalzen und das im Käse enthaltene Wasser nimmt etwa 5 Proz. NaCl auf. Das Kochsalz wird im Käse dieselbe Wirkung auf den Käsestoff ausüben, wie ich es in meinen Rohren gefunden habe, d. h. die typische Quellung verursachen, und das Maß der Quellung wird auch hier in der Wasserstoff-Ionenkonzentration gelegen sein. Bei meinen früheren Untersuchungen fand ich diese Größen zu $0,6 \text{ à } 1,2 \times 10^{-5}$ n. Nach Kurve I fällt die Quellbarkeit anfangs stark in diesem Gebiete, um später langsamer abzunehmen. Ja die Kurve zeigt selbst bei $\pm 1 \times 10^{-5}$ n. einen deutlichen Knick. Und was findet man beim Messen des H-Ionengehalts von verschiedenen Käsen? Je nachdem diese Konzentration höher gefunden wurde, zeigte sich die Käsemasse weniger souple, und bei den höheren Werten ($1,1 \text{ à } 1,3 \times 10^{-5}$ n.) wurde die bei Edamerkäse so oft vorkommende harte, selbst spröde Konsistenz beobachtet.

Auch auf andere, noch unerklärte Erscheinungen, die bei den Untersuchungen der früher genannten amerikanischen Forscher v a n S l i j k e und B o s w o r t h¹⁾ zutage getreten sind, werfen die oben festgestellten Tatsachen volles Licht. Diese Autoren entnahmen dem Bruche während der Milchsäuregärung in verschiedenen Zeitintervallen Proben, deren Löslichkeit in 5-proz. NaCl-Lösung sie bestimmten. Es wurde z. B. gefunden:

¹⁾ Technic. Bull. New York Agric. Exper. Station Geneva N. Y. 1907. No. 4.

	Gelöst (in % vom Total-N)
Beim Anfang des Pressens	17,17
1½ Stunde später	52,84
3 Stunden „	65,62
4½ „ „	70,03
7½ „ „	75,53
1 Tag „	76,64
1 Woche „	66,75
2 Wochen „	55,64
4 „ „	58,75
2 Monate „	49,73
4 „ „	46,48
6 „ „	51,01

Es werden in dem genannten Aufsatz noch einige weitere Beispiele gegeben; in einem Fall lösten sich 96 Proz. des gesamten N in 5 Proz. NaCl. Es leuchtet ein, daß der Verlauf dieser Zahlen so ziemlich übereinstimmt mit der von mir gefundenen Kurve. Die in Kochsalz lösliche Menge geht durch ein Maximum, um dann wieder zu fallen. Daß die Säurebildung bei den hier betrachteten Cheddarkäsen so langsam vor sich geht, während bei den Edamerkäsen die ganze Gärung in einigen Stunden beendet ist, ist so zu erklären, daß bei den ersteren das Salzen im Bruch geschieht. Dadurch wird die Fermentwirkung sehr bedeutend verzögert. Die genannten Forscher bemerken in dieser Beziehung, daß der Milchzucker in etwa zwei Wochen zersetzt ist. Um ein Urteil darüber zu gewinnen, von welchen geringen Unterschieden in reeller Acidität der Bau der Käsemasse abhängt, denke man sich folgendes:

Ein gewöhnlicher Edamerkäse von 2 kg enthält in frischem Zustand ± 1 l Wasser. Die Wasserstoff-Ionenkonzentration desselben beträgt 0,6 à $1,2 \times 10^{-5}$ n., d. h. in Gewicht: 0,006 à 0,012 mg an H-Ionen. Die Differenz dieser Zahlen, d. h. 0,006 mg, entscheidet über die Struktur der Käsemasse.

Es leuchtet aber ein, daß hier nur das Verhältnis der Werte für die Konzentrationen in Betracht kommen soll und man sieht, daß im letzten Fall die Acidität das doppelte beträgt von derjenigen im ersten Fall. Dennoch soll man sich fragen: muß es wundern, daß man so oft über geheimnisvolle Erscheinungen im Käsebereitungsprozeß sprechen hört? Aus meinen Untersuchungen geht wirklich hervor, daß unglaublich kleine Verschiedenheiten in chemischer Hinsicht große Differenzen im Produkt mit sich bringen.

Für denjenigen, der kein Studium gemacht hat über die physikalisch-chemischen Erscheinungen im allgemeinen, muß ein solches Resultat unglaublich erscheinen, und es drängt sich natürlich die Frage auf: Wie ist es denn möglich, daß viele Käsebereiter dennoch imstande sind, während Tagen und Wochen ein ziemlich konstantes Produkt zu bereiten? Die Erklärung dafür ist nun die, daß die Käsemasse größtenteils aus Phosphaten zusammengesetzt ist, und diese spielen die Rolle eines genauen Regulators. Um nämlich die oben genannte Differenz von 0,006 mg an Wasserstoff-Ionen in einem Käse von 2 kg zu erhalten, sind mehrere Gramm Milchsäure nötig. Für die Erklärung dieser Tatsache sei auf die Lehrbücher der allgemeinen Chemie hingewiesen.

Der oben besprochene Einfluß von so kleinen Mengen H-Ionen steht aber keineswegs als Unikum da, und ich betrachte es als ein wichtiges Resultat meiner Untersuchungen, daß festgestellt werden konnte, daß es sich hier um Erscheinungen handelt, die einen Teil der Kolloïdchemie bilden,

welche bekanntlich in den letzten Jahren im Brennpunkte des Interesses einer großen Zahl hervorragender Forscher steht. Wir können nämlich schließen:

Der Bau der Käsemasse hängt hauptsächlich von der Wasserstoff-Ionenkonzentration ab. Der Fehler „Kurz“ muß als eine kolloidchemische Erscheinung betrachtet werden: das ungenügende „Quellen“ der Käsemasse unter dem Einfluß von Kochsalz und der Wasserstoff-Ionen.

In der Kolloidchemie sind mehrere Beispiele bekannt von dem großen Einfluß solcher verschwindend kleinen Mengen H-Ion. So führen M a y e r, S c h a e f f e r und T e r r o i n e a n¹⁾ an, daß eine $1/25000$ — $1/100000$ n. HCl-Lösung genügt, um den Dispersitätsgrad von Metalsol und Arsensulfidsol bedeutend zu verringern.

In welcher Weise das Wasserstoff-Ion seine Wirkung auf die Eiweißlösungen ausübt, muß vorläufig dahingestellt bleiben; das System ist zu kompliziert, um hierüber etwas aussagen zu können.

Jetzt war es angebracht, die oben angeführten Versuche bei anderer Kochsalzkonzentration zu wiederholen, um einen Einblick zu erhalten in die Rolle, die das Salzen des Käses spielt in bezug auf das Geschmeidigwerden des Teiges.

Die Tabellen V und VI geben die Resultate, die in Figur I graphisch dargestellt sind.

T a b e l l e V.

3 % NaCl. T = 19,5° C.

$C_H \times 10^5$	ccm $1/10$ n. Säure nach Kjeldahl pro 25 ccm Filtrat
1,21	5,5
1,02	7,6
0,82	13,7
0,59	20,7
0,45	22,8
0,305	28,6
0,20	32,0
0,045	27,9

T a b e l l e VI.

1 % NaCl. T = 19,5° C.

$C_H \times 10^5$	ccm $1/10$ n. Säure
0,76	4,55
0,575	5,9
0,435	7,0
0,305	11,3
0,205	12,2
0,07	14,4

Die Quellung des Teiges nimmt ab, je nachdem die gewählte Salzkonzentration kleiner ist. Für 1 Proz. NaCl ist das Maximum aus der Kurve verschwunden; vielleicht ist es mehr nach links gelegen.

Wie steht es nun mit den Flüssigkeiten, die mehr als 5 Proz. Kochsalz enthalten? Die Tabellen VII, VIII und IX geben die Antwort. Zum Ver-

¹⁾ Compt. Rend. T. 145. 1907. p. 918; T. 146. 1908. p. 484. (Zitiert nach O s t - w a l d, Grundriß der Kolloidchemie).

gleiche wurden in Figur II auch Kurve I, also für 5 Proz. NaCl, wieder gezeichnet.

Tabelle VII.

7,5 % NaCl. T = 19,5° C.	
$C_H \times 10^5$.	ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure
1,04	7,4
0,86	10,6
0,68	18,9
0,49	31,0
0,32	33,5
0,17	29,4

Tabelle VIII.

10 % NaCl. T = 19,5° C.	
$C_H \times 10^5$.	ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure
1,11	3,5
1,0	5,4
0,88	6,7
0,62	9,1
0,46	20,4
0,31	23,4
0,15	19,0

Tabelle IX.

15 % NaCl. T = 19,5° C.	
1,11 ¹⁾	1,85
1,0	2,0
0,88	2,2
0,62	2,2
0,46	3,3
0,31	4,5
0,15	5,0

Aus Figur II ist ersichtlich, daß die Quellung wieder abnimmt bei Konzentrationen, die höher als 7,5 Proz. sind; die Maximumquellung liegt also zwischen 5 und 7,5 Proz. Kochsalz in der Lösung; das ist gerade die Konzentration, die man in der Praxis der Edamerkäsebereitung antrifft. Ein Salzgehalt von 5 Proz. der Feuchtigkeit ist nämlich ganz normal.

Denkt man sich nun weiter eine normale Wasserstoff-Ionenkonzentration eines Käses, z. B. $0,85 \times 10^{-5}$ n., und wählen wir die aus den Kurven I, II, III, IV, V und VI zu entnehmenden Werte für den gelösten Käsestoff als Ordinaten, die entsprechenden Salzkonzentrationen als Abszissen, so resultiert eine Kurve, die für eine konstante Wasserstoff-Ionenkonzentration die Löslichkeit bzw. Quellung des Käsestoffes angibt, als Funktion der Kochsalzkonzentration.

Man erhält also eine regelmäßig verlaufende Kurve, deren Maximum zwischen 5 und 7,5 Proz. NaCl liegt. Sie gestattet, sogleich die Erklärung für das Auftreten des sogenannten „Salzrands“ herauszufinden. Sehr oft sieht man bei jungen Käsen auf dem Querschnitt einen etwa 2 bis 5 cm breiten (± 1 cm von der Peripherie) Ring, welcher ganz weiß und kurz ist²⁾.

¹⁾ Nicht mehr elektrometrisch bestimmt. Dieselben Mengen Milchsäure und Käsestoff als in Tabelle VIII vermischt.

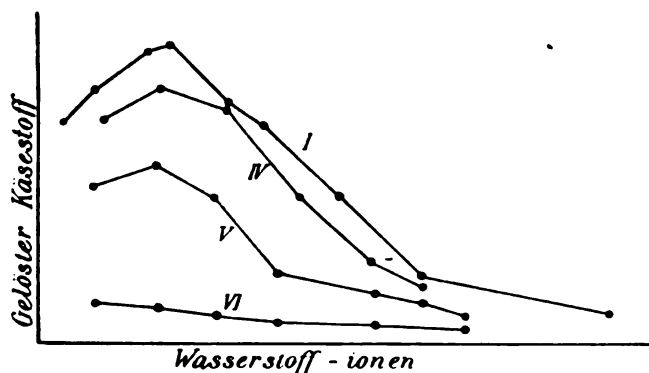
²⁾ In diesem Centralbl. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 754 findet sich eine gute Abbildung dieser Erscheinung.

Boekhout und Ott de Vries²⁾ haben gemeint, diese Erscheinung bakteriologischen Ursachen zuschreiben zu müssen. Sie fanden nämlich nach dem Pökeln des Käses einen Salzgehalt von 13 Proz. (des Wassers) gleich unter der Rinde; bei so hoher Konzentration würden die Milchsäurebakterien außer Wirkung gesetzt werden und sie meinten, einen Salzrand erwarten zu können, wenn bei der Milchsäuregärung nur langsam wirkende Fermente tätig sind. In diesem Falle wäre es denkbar, daß noch vor Beendigung der Zersetzung des Milchzuckers das Kochsalz die Bakterienwirkung

hemmt. Diese Erklärung ist aber nicht stichhaltig, denn man beobachtet den Salzrand auch dann, wenn

die Milchsäurebildung schon auf der Presse ihr Ende genommen hat. Ich glaube, daß es sich hier nicht um eine bakteriologische, sondern vielmehr um eine typische kolloidchemische Erscheinung handelt. Ein Blick auf obenstehende Kurve lehrt, daß bei den höheren Salz-

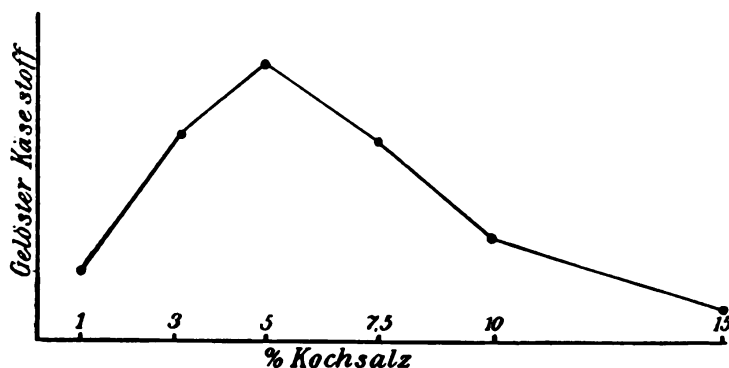
Fig. II.



konzentrationen die Auflösung und die damit Hand in Hand gehende Quellung des Käsestoffs nur klein ist. Nun ist es sehr gut denkbar, daß beim langsamen Diffundieren des Salzes in das Innere eines Käses die Quellung hier schon stattfinden kann, während am Rande die zu hohe Konzentration dieselbe noch verhindert. Nach einiger Zeit verschwindet der weiße

Ring. Auch dies stimmt mit meinen Beobachtungen im Rohr vollkommen überein. Ich fand nämlich, daß nach dem Schütteln meines Präparates während einiger Tage bei passender H-Ionenkonzentration ($0,7 \times 10^{-5}$ n.) mit 15 Proz. NaCl, Verdünnung der Flüssig-

Fig. III.



keit die Käsemasse zur starken Quellung bringt. Dasselbe findet im Käse statt. Wenn das Salz sich gleichmäßig verteilt hat durch Diffusion (bei kalter Witterung verläuft sie langsamer, und das erklärt die Tatsache, daß der Salzrand sich im Winter am meisten zeigt) verschwindet auch der Unterschied in der Quellung. Daß der weiße Ring nicht unmittelbar unter der Rinde gefunden wird, muß dem Umstande zugeschrieben werden, daß die Edamerkäse zwei oder drei Tage nach dem Herausnehmen aus der

²⁾ Ibidem.

Salzlake „gewässert“ werden, d. h. während einiger Stunden in Wasser gelegt werden. Demzufolge wird die Kochsalzkonzentration unter der Rinde geringer und die Käsemasse fängt an zu quellen. Als Mittel gegen die Bildung eines Salzrandes kann also angegeben werden: Man bewahre die Käse im ersten Reifungsstadium nicht zu kalt auf.

Die obenstehenden Kurven geben also ein ziemlich vollständiges Bild der Änderungen der Käsemasse unter dem Einfluß von Kochsalz und Milchsäure.

Es leuchtet ein, daß die mehr oder weniger ausgesprochene Festigkeit des Teiges auch von dem Feuchtigkeitsgehalte des Käses abhängt. Bei meinen Versuchen über den Einfluß der Bearbeitung des Bruchs auf das Entstehen von Rissen (boekelscheurtjes)¹⁾ zeigten sich die B-Käse (außerordentlich stark ausgerührt) oft sehr fest, bisweilen etwas zähe, dem geringen H-Ionengehalt zufolge aber von großer Dispersität. Durch Wasserzugabe zur Milch oder durch Nachwärmen mit Wasser statt Molke, wie es in der Fabrikation der Gouda-Käse üblich ist, erhält man ebenfalls eine niedrige Wasserstoffionenkonzentration²⁾ und daher reichliche Quellung, aber bei normalem Feuchtigkeitsgehalte; die in dieser Weise bereiteten Edamerkäse sacken bisweilen stark ein. Bei niedrigerem Wassergehalte würde das weniger der Fall sein.

Noch eine andere Erscheinung bei den Edamerkäsen findet in den hier beschriebenen Tatsachen eine einfache Erklärung; ich meine das ab und zu vorkommende Auftreten einer zu dicken Rinde. Schon im Jahre 1908 machte ich bei Gelegenheit meiner Versuche über das Entstehen von Rissen die Beobachtung, daß die Käse mit gutem, weichem Teig, aber wenig Feuchtigkeit, eine auffallend dicke Rinde hatten, während die harten, spröden Exemplare diese Eigentümlichkeit nicht zeigten. Seitdem machte ich in zahlreichen Fällen dieselbe Beobachtung. Sie läßt sich durch folgendes erklären: Wenn die Bereitung so durchgeführt wird, daß ein guter, homogener Teig erhalten wird, daß also deutliche Quellung stattfindet, so ist die Käsemasse nichts anderes, als was man in der Kolloidchemie ein Gel zu nennen gewohnt ist. Und ganz so, wie z. B. die Gelatine beim Eintrocknen eine hornartige Masse hinterläßt, bildet der Käseteig beim Verdampfen der Flüssigkeit an der Oberfläche eine hornartige Substanz. Bei einem kurzen, oder jedenfalls nicht zu stark gequollenen Käse findet diese für Gele typische Änderung nicht statt; bei solchen Käsen findet man den Fehler selten oder nie.

Über die Rolle, die das Fett bei dem Bau des Teiges spielt, geben meine Untersuchungen begreiflicherweise keine Aufklärung. Es sei aber bemerkt, daß sehr fette Käse öfters „kurz“ sind, ja selbst die Praxis lehrt, daß Vollmilch beim Verkäsen mehr „kurz“ gibt als ein wenig entrahmte, eine Tatsache, die jetzt leicht erklärt werden kann. Bei demselben Gehalt an Molke wirkt im ersten Falle die Milchsäure auf weniger Käsestoff als im zweiten; die Wasserstoff-Ionenkonzentration ist also auch größer im ersten Fall,

¹⁾ l. c.

²⁾ So fand ich für 2 Käse aus einer Versuchsreihe von Boekhout und Otte de Vries $C_H = 1,2 \times 10^{-5}$ für das normal bereitete Exemplar, dagegen $C_H = 0,85 \times 10^{-5}$ für den Fall, daß mit 1 Teil Molke + 2 Teile Wasser, statt mit Molke allein nachgewärmt wurde.

und das hat, wie wir oben gesehen, eine weniger gute Quellung zur Folge. Ein wichtiger Punkt bei der Beurteilung der Käsemasse ist die sogenannte „Schmierbarkeit“, d. h. die Eigenschaft, sich zwischen Daumen und Finger mehr oder weniger gut ausschmieren zu lassen. Bisweilen glaubt man sich in dieser Weise ein Urteil über den Fettgehalt des Käses bilden zu können; das ist aber unrichtig, denn die genannte Eigenschaft ist mehr abhängig vom Bau des Käsestoffs als vom Fett (in gewissen Grenzen wenigstens). Bei starker Aufquellung des Käsestoffs werden die Fetteilchen dermaßen eingeschlossen, daß sie zum Ausschmieren wenig beitragen können. Ist die Dispersität geringer, so nimmt die Schmierbarkeit zu bis zur groben Struktur („kurz“). Dann läßt sich die Masse weniger gut ausschmieren des körnigen Käsestoffs wegen. Ein hoher Fettgehalt zeigt sich also am vorteilhaftesten bei Käsen, die weder kurz, noch stark gequollen sind.

Schließlich will ich noch auf einen Punkt hinweisen, weil mir darin die Erklärung gelegen zu sein scheint für eine bisher nicht aufgeklärte Beobachtung. Die Bestimmung der löslichen stickstoffhaltigen Verbindungen in reifendem Käse ist bekanntlich von der größten Wichtigkeit für das Studium des Reifungsprozesses. Schon B o n d z y n s k i¹⁾ fand, daß dieser Gehalt höher gefunden wird, je nachdem das Ausziehen mit Wasser bei niedrigen Temperaturen geschieht. Diese Beobachtung fand ich vollkommen bestätigt, und ich bemerkte schon früher²⁾, daß nur das Arbeiten in einem Thermostat unter fortwährendem Schütteln zu übereinstimmenden Resultaten führt. Die Erklärung für die großen Differenzen, die man für verschiedene Temperaturen findet, liegt nun, wie ich glaube, im folgenden:

Verdünnt man die bei oben beschriebenen Versuchen erhaltenen Lösungen in 5-proz. Kochsalz mit Wasser, so nimmt die Opaleszenz sehr langsam zu. Stellt man die Lösungen bei 25° C in den Thermostaten statt bei Zimmertemperatur, so trüben sie sich viel schneller und nach 6—12 Stunden scheidet sich ein deutlicher Niederschlag aus. Bei Zimmerwärme geschieht es noch nicht in zwei Tagen. Bedenkt man dabei, daß ich bei meinen Versuchen für die Bestimmung der löslichen N-haltigen Verbindungen immer während 18 Stunden schüttelte, wodurch die Ausflockung des Käsestoffs noch bedeutend beschleunigt wird, so leuchtet es ein, daß mit der vorher üblichen Arbeitsweise sehr falsche Resultate erhalten werden mußten. Ganz gewiß hat man öfter Kasein, das infolge der niedrigen Temperatur und zu wenig Schütteln kolloidal gelöst blieb, auf Rechnung der Abbauprodukte des Parakaseins geschrieben.

III. D a s N e u t r a l i s a t i o n s v e r m ö g e n d e r d u r c h L a b a u s M i l c h g e f ä l l t e n B e s t a n d t e i l e .

Im vorigen Kapitel wurde also dargetan, daß es die Wasserstoff-Ionenkonzentration in der Käsemasse ist, welche hauptsächlich den Bau des Teiges bedingt. Sind also viele Stoffe im Bruch vorhanden, welche die Wasserstoff-Ionen zu binden vermögen, so könnte man weiche Käse erwarten, während die Anwesenheit von nur wenig neutralisierenden Verbindungen das Auftreten einer körnigen Struktur von vornherein wahrscheinlich machen würde, immerhin bei normaler Bearbeitung und gleicher Menge Milchzucker in der Milch. Wie steht es nun mit dem Vermögen, die Milchsäure zu neutralisieren

¹⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. VIII. p. 189.

²⁾ l. c.

für die Bestandteile, die vom Labe aus der Milch gefällt werden? Der Kalkgehalt der Milch kann kein Maß dafür sein, und ebenso wenig das Verhältnis vom Käsestoff und Kalk. Die mehr oder weniger stark neutralisierende Kraft hängt ja mit der Verteilung der Bestandteile zusammen. Der einzige Weg, um über die Differenzen im Neutralisationsvermögen des Bruchs von einzelnen Milchmustern unterrichtet zu werden, scheint mir der zu sein, daß man eine bestimmte Menge der sorgfältig vorbereiteten Käsemasse mit einer ebenfalls bestimmten Quantität Milchsäure schüttelt, und die Konzentration der H-Ionen in der erhaltenen Lösung mißt. Die Erfahrung lehrte mich nämlich, daß von Titrieren nicht die Rede sein kann, wie auch schon im voraus vermutet werden konnte hinsichtlich der Anwesenheit der Phosphate. Nach vielen vergeblichen Bemühungen gelang es mir, eine Methode ausfindig zu machen, die für den beabsichtigten Zweck genügend genaue Resultate gibt. Im Anfang habe ich die in der Milch suspendierten Stoffe durch Alkohol zu fällen versucht, erhielt aber dabei so sehr auseinandergehende Zahlen, daß diese, übrigens sehr leichte Arbeitsweise verlassen werden mußte. Schließlich wurde wie folgt verfahren: $\frac{1}{2}$ l frische Milch wurde bei 30° C durch $\frac{1}{2}$ ccm Labessenz dickgelegt und die geronnene Masse, als sie noch bedeutend weniger fest war, als beim gewöhnlichen Käsebereitungsprozeß mit einem Glasstab schnell verteilt. Während 8 à 10 Minuten wurde regelmäßig gerührt und dann nach dem Absetzen durch Nesseltuch filtriert. Schließlich wurde mit der Hand, zuerst vorsichtig, dann stark ausgepreßt zur Entfernung der überschüssigen Molke. Es wurde eine ziemlich trockene Masse erhalten. Sie wurde in einem Mörser möglichst klein gemacht und mit mit 96 Proz. Alkohol, der anfangs tröpfchenweise zugesetzt wurde, verrieben zur Entfernung des Milchzuckers. Es ist absolut notwendig, den Alkohol sehr langsam zuzusetzen, sonst bildet die Masse plötzlich einen großen Klumpen und der Versuch ist mißlungen; für die Vermischung braucht man etwa 10 Minuten. Nach wiederholtem Dekantieren mit Alkohol¹⁾ wurde auf dem Saugetrichter filtriert, in Äther aufgenommen zur Lösung des noch ungelöst gebliebenen Fettes, wieder filtriert und mit Äther nachgewaschen. Nur wenn ein staubfeines, blendend weißes Pulver erhalten wird, kann der Versuch als gelungen betrachtet werden. Schließlich wurde noch während zwei Tagen mit Äther im Soxhletapparat extrahiert, um die letzten Spuren des Fettes, die vom Käsestoff hartnäckig festgehalten werden, zu entfernen. Das lufttrockene Präparat wurde für die Messungen verwendet.

Eine solche Menge, als mit 0,8 g Trockensubstanz²⁾ übereinstimmt, wurde mit 40 ccm Milchsäure einer solchen Konzentration, daß die erhaltene H-Ionenkonzentration im für Käse gefundenen Gebiete liegt, geschüttelt; 40 ccm dieser Säure stimmten mit 8,06 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH überein. Nachdem während 24 Stunden im Thermostat bei 19,5° C rotiert worden war, wurde filtriert und 20 ccm des Filtrats mit 0,7 ccm NaCl-Lösung (29,44 Proz.) vermischt. Dadurch wurde eine schärfere Einstellung des Kontakts auf dem Meßdraht erreicht. Von der so erhaltenen Flüssigkeit wurde die H-Ionenkonzentration gemessen mittels Gaselektroden, und zwar gegen $\frac{1}{100}$ n. HCl.

An erster Stelle mußte nun die Genauigkeit der Methode festgestellt

¹⁾ Der Milchzucker darf nicht mit Wasser gewegewaschen werden. Die Salze des Bruchs unterliegen in starkem Maße der Hydrolyse. Das Neutralisationsvermögen einer mit Wasser gereinigten Masse fällt ganz bedeutend geringer aus.

²⁾ Das getrocknete Präparat läßt sich nur schwer benetzen; ich zog es daher vor, die Feuchtigkeit gesondert zu bestimmen und in Rechnung zu setzen.

werden, denn es handelt sich hier um nur geringe Differenzen. Zu diesem Zwecke wurde ein Volum Mischmilch in so viel Teile verteilt, als in einem Tage verarbeitet werden konnte, also sieben Portionen von $\frac{1}{2}$ l. Diese wurden nach der oben angegebenen Methode behandelt; in Tabelle X sind die gefundenen elektromotorischen Kräfte (E) der Konzentrationskette und die daraus berechneten Wasserstoff-Ionenkonzentrationen aufgezeichnet.

T a b e l l e X.

	E (in Volt)	C _H
1.	0,1784	$0,81 \times 10^{-5}$
2.	0,1795	0,775 „
3.	0,1794	0,775 „
4.	0,1788	0,795 „
5.	0,1784	0,81 „
6.	0,1795	0,775 „
7.	0,1798	0,77 „

Berechnet man mittels des aus der Wahrscheinlichkeitsrechnung hergeleiteten Ausdrucks für den mittleren Fehler, welcher als jeder einzelnen Beobachtung anhaftend vorausgesetzt werden kann, aus obigen Zahlen den Wert dieser Größe, so findet man $f = \pm 0,017 \times 10^{-5}$. Es ist klar, daß für unseren Zweck die Methode genügend genau ist. Zwar findet man für andere Milch, z. B. mit größerem Neutralisationsvermögen, einen größeren Wert für f, der weniger scharfen Einstellung auf dem Meßdraht wegen, die hierdurch bedingte Differenz verschwindet aber ganz im Vergleich mit den Abweichungen, die ihren Grund finden in der Bereitung des Versuchsmaterials. Es kann also angenommen werden, daß der gefundene Wert für f ein richtiges Bild gibt von der Genauigkeit der Methode.

Wurde bei demselben Präparate die Milchsäuremenge 10 Proz. kleiner gewählt, so fand ich C_H zu $0,60 \times 10^{-5}$ n.; es könnte eventuell eine Differenz von 2 Proz. der Milchsäure noch deutlich aufgedeckt werden.

Jetzt konnte dazu übergegangen werden, das Neutralisationsvermögen der festen Bestandteile der Milch von einzelnen Kühen zu bestimmen.

In Tabelle XI findet man außerhalb des Neutralisationsvermögens im oben umschriebenen Sinne, folgende Größen angeführt:

Der Milchzuckergehalt in Proz., der N-Gehalt (in $\frac{1}{10}$ n. Säure pro 10 ccm Milch nach Kjeldahl, m. Gr. CaO pro 50 ccm Milch, CaO berechnet pro 100 ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure nach Kjeldahl, Proz. CaO des wasserfreien Käsestoffs, die Größe E der Konzentrationskette und zuletzt die Quellung des Käsestoffs durch 5-proz. NaCl-Lösung, die durch die Löslichkeit derselben ausgedrückt wird.

Betrachten wir diese Tabelle etwas näher, so lehrt zuerst Stab 8, daß das Neutralisationsvermögen des Bruchs aus Milch einzelner Tiere deutliche Differenzen aufweist. So ist die H-Ionenkonzentration für No. 12 etwa $\frac{1}{3}$ von derjenigen für Kuh 6. An zweiter Stelle ist ersichtlich, daß der Kalkgehalt der Milch (Stab 4) keineswegs ein Maß sein kann für das Vermögen der Käsemasse, die Milchsäure zu neutralisieren; No. 6 mit 85 mg CaO gibt z. B. eine bedeutend saurere Lösung als No. 16 mit 73 mg CaO pro 50 ccm Milch. Hierin ist also ein starker Hinweis gelegen auf die Richtigkeit meiner auf Seite 5 ausgesprochenen Vermutung, es sei aus dem Umstande, daß kalkarme Milch bei den Versuchen Boekhouts und Ott de Vries

Tabelle XI.

No. der Kuh	% Milch- zucker	cem $\frac{1}{10}$ H_2SO_4 pro 10 Milch	mg CaO pro 50 Milch	mg CaO pro 100 $\frac{1}{10} H_2SO_4$	% CaO des Käsestoffs	E. in Volta	$C_H \times 10^5$	cem $\frac{1}{10}$ H_2SO_4 pro 15 Filtr. der in 5 % NaCl ge- quollenen Masse	Bemerkungen
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	5,05	30,6	81,4	53,2	4,76	0,1844	0,63	> 28,8	Neumelkend. (1½ Mon. p. p.)
12	4,5	43,6	114,0	52,3	5,29	0,2014	0,33	> 27,9	Altmelkend. Trächtig.
F.	4,86	33,6	80,8	48,1	4,19	0,1789	0,79	16 (?)	Neumelkend. (2 Mon. p. p.)
16	4,80	30,3	73,2	48,1	4,17	0,1784	0,81	20,0	Neumelkend. (3 Mon. p. p.)
7	5,0	31,9	73,4	46,0	4,19	0,1800	0,76	21,3	Neumelkend. (2½ Mon. p. p.)
8	4,86	34,4	76,8	44,6	3,75	0,1720	1,04	6,6	Altmelkend. Geld.
29	5,4	33,0	72,0	43,7	3,71	0,1770	0,85	11,15	Neumelkend. (1½ Mon. p. p.)
6	4,77	39,8	85,0	42,7	3,31	0,1729	1,01	5,85	Altmelkend. Geld.
Gemischt von 30 Kühen	—	—	—	—	4,04	0,179	0,79	20,9	—

kurze Käse ergaben, nicht zu schließen, daß dies dem geringeren Neutralisationsvermögen zugeschrieben werden mußte. Ohne Zweifel hielten die Käse zu viel Molke zurück, was eine zu hohe Wasserstoff-Ionenkonzentration zur Folge hat. Auch das Verhältnis vom Kalk zum Käsestoff in der Milch (Stab 5) läßt keinen sicheren Schluß zu über das mehr oder weniger starke Neutralisationsvermögen, obwohl gesagt werden kann, daß ein hoher Kalkgehalt dem Kasein gegenüber eine geringe Azidität der Lösung liefert. Dasselbe gilt vom Kalkgehalte der Käsemasse (Stab 6); hier wird selbst sehr annähernd dieselbe Reihenfolge gefunden als für die Azidität.

Hinsichtlich des Baues der Käsemasse im Käse ist der Vergleich von Stab 8 und 9 am meisten interessant. Mit Ausnahme von No. F. gehen Quellung und Azidität vollkommen parallel, d. h. für die niedrigen Wasserstoff-Ionenkonzentrationen ist alles gelöst, für die höheren dagegen bleibt ein großer Teil des Käsestoffs ungelöst. Und ganz so, wie wir es früher gesehen haben, für ein und dasselbe Präparat mit verschiedenen Mengen Milchsäure, zeigte sich jetzt für die einzelnen Präparate mit derselben Menge Säure ein großer Unterschied im Äußeren des ungelösten Rests. Je nachdem die gefundene Azidität der Lösungen höher oder niedriger war, war der rückbleibende Niederschlag mehr pulverförmig oder stark gequollen. Ich will nochmals nachdrücklich bemerken, daß es sich hier um dieselben reellen Aziditäten handelt, bei welchen auch im Käse die Quellung weniger gut ist, die Struktur sich dem „Kurz“ nähert. Bei etwa $1,1 \times 10^{-5}$ ist die Käsemasse hart, bisweilen feucht und zeigt typische Risse (boekelscheurtjes) auf dem Querschnitt.

Betrachtet man schließlich die Zahlen für den Milchzuckergehalt (Stab 2), so könnte man, bei der Annahme, das Neutralisationsvermögen sei von überwiegendem Einfluß auf das Entstehen einer körnigen Struktur, erst recht große Verschiedenheiten für den Bau der Käsemasse aus der Milch einzelner Kühe erwarten. Wählt man z. B. No. 29, mit 5,4 Proz. Milchzucker und relativ niedrigem Neutralisationsvermögen ($0,85 \times 10^{-5}$) gegenüber No. 12 mit 4,5 Proz. Milchzucker und $0,33 \times 10^{-5}$, so springt die große Differenz in die Augen; im letzteren Fall könnte man cet. par. einen sehr weichen Teig erwarten.

Jetzt war aber die Frage zu beantworten, für welche Azidität bei der oben befolgten Arbeitsweise unter normalen Umständen, d. h. bei normalem Zuckergehalt der Molke und Wassergehalt des Käses, der Bau der Käsemasse ein guter genannt werden kann. Das ist aber eine schwierige Sache, denn die Bereitung von Käsen aus der Milch einzelner Kühe ist schwer; so ist es z. B. nicht leicht, immer denselben, normalen Wassergehalt zu erhalten, ja scheint selbst nicht möglich zu sein. Aus den hier folgenden Untersuchungen sind jedoch wichtige Schlüsse zu ziehen in bezug auf die Ursache des Entstehens von „kurzem“ Käse.

Es wurde folgenderweise verfahren:

Die Morgenmilch einer Kuh wurde sogleich nach dem Melken gekühlt und bei niedriger Temperatur, etwa 8° – 9° C, aufbewahrt; die Abendmilch wurde mit ersterer vermischt und am folgenden Morgen ein wenig abgerahmt. Dann wurde die frische Morgenmilch zugegeben und sogleich verkäst in einer kleinen Wanne, in der ein Käse bereitet werden kann. Vorher wurde aber der Milchzuckergehalt durch Polarisation bestimmt und auf Grund der hierbei erhaltenen Ziffern soviel Wasser bzw. Milchzucker zur Milch zugegeben, daß der Gehalt 4,9 Proz. war, welche Zahl also als normal ange-

nommen wurde. Überdies wurden alle Größen, wie sie in Tabelle XI aufgezichnet sind, bestimmt. Nach einem Monat wurden die Käse beurteilt und die folgenden Messungen ausgeführt: Die Wasserstoffionenkonzentration der Käsefeuchtigkeit, den in 5-proz. NaCl-Lösung unlöslichen Teil, der Wassergehalt gleich nach dem Pökeln, das Fett in der Trockensubstanz und den Kochsalzgehalt.

Die Wasserstoff-Ionenkonzentration wurde nach der früher¹⁾ umschriebenen Methode gemessen durch Bestimmung der elektromotorischen Kraft der Konzentrationskette: H_2 -Käsemasse. — KCl — $\frac{1}{100}$ n. HCl — H_2 .

Den in 5-proz. Kochsalzlösung nicht löslichen Teil fand ich aus der Differenz vom total N-Gehalte eines Gramms Käse und dem N-Gehalte des Filtrats von 1 g in 50 ccm Wasser gelöst, nachdem es 24 Stunden bei Zimmertemperatur unter ab und zu Umschütteln 24 Stunden gestanden hatte.

Der Wassergehalt nach dem Pökeln wurde gefunden durch genaue Wägung der Käse gleich aus der Salzlake und Wiederholung der Gewichtsbestimmung vor dem Analysieren. Die Feuchtigkeitszahlen des marktreifen Käses konnten also auf den frischen Zustand umgerechnet werden.

Für die Bestimmung des Kochsalzes wurden 5 g Käse vorsichtig verkohlt und die rückbleibende Masse mit heißem Wasser ausgezogen. Nachher wurde nach Volhard titriert.

In Tabelle XII findet man die Daten zusammengestellt:

Erstens ist diesen Zahlen wieder zu entnehmen, daß der Kalkgehalt der Milch und das Neutralisationsvermögen des Bruchs keineswegs parallel gehen (Stab 4 und 8). Z. B. gibt No. 34 mit 67 mg CaO pro 50 ccm Milch die Neutralisationszahl 0,72 —, No. 30 dagegen bei 73,3 mg CaO, $0,92 \times 10^{-5}$ n. Auch in Tabelle XII zeigt sich wieder, daß im allgemeinen mit einem hohen Gehalt des Bruchs an Kalk eine niedrigere Azidität, also ein größeres Neutralisationsvermögen, verbunden ist; vollkommene Parallelität besteht nicht (Stab 6 und 8).

Obgleich bei meinen Versuchen der Milchzuckergehalt korrigiert wurde, sei doch auf die großen Differenzen in den Zahlen von Stab 1 hingewiesen, welche für den in Frage stehenden Punkt von Wichtigkeit sind.

Die Löslichkeit in 5-proz. NaCl-Lösung geht wieder mit der Wasserstoff-Ionenkonzentrationen parallel (Stab 8 und 9); betrachten wir aber die H-Ionenkonzentrationen des Käses, so zeigt sich, daß die Reihenfolge der Aziditätszahlen eine ganz andere ist (Stab 8 und 11). Die Löslichkeit in 5 Proz. NaCl der Käsemasse der bereiteten Käse geht den Aziditäten dieser Käse wieder parallel (Stab 11 und 12). Wie soll man sich nun darüber klar werden? Stab 13 enthält hierauf die Antwort. Der Gehalt an Feuchtigkeit der Käse nach dem Pökeln (und es kann angenommen werden, auch vor dem Salzen) weist ziemlich große Differenzen auf, aber nicht größer, als man es auch in der Praxis begegnet. Vergleicht man z. B. No. 28 und No. 34, so leuchtet es ein, daß das Neutralisationsvermögen des ersteren kleiner ist (Azidität $0,79 \times 10^{-5}$ n. gegen $0,72 \times 10^{-5}$ n. für 34), die Azidität von Käse 34 ist aber bedeutend größer ($1,36 \times 10^{-5}$ n.) als bei Käse 28 ($1,20 \times 10^{-5}$). Diese Tatsache läßt sich nun aber dadurch erklären, daß No. 34 nicht weniger als 52,8 Proz. Wasser enthielt, gegen 46,3 für No. 28. In den ersteren war also bedeutend mehr Milchzucker zurückgehalten, durch dessen Umwandlung in Milchsäure die Masse sehr sauer und kurz wurde. No. 28 war zwar nicht

¹⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 26. 1910. p. 189.

Tabelle XII.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
No. der Kuh															
% Milchzucker															
$\frac{1}{10}n$ H ₂ SO ₄ nach Kjeldahl für 10 ccm Milch															
mg CaO pro 50 ccm Milch															
mg CaO pro 100 $\frac{1}{10}n$ H ₂ SO ₄ nach Kjeldahl															
% CaO des trocknen Präparates															
Electrom. Kr. der Konzent.-Kette gegen $\frac{1}{100}n$ HCl															
$C_H \times 10^{-5}$															
ccm $\frac{1}{10}n$ H ₂ SO ₄ pro 15 ccm NaCl Lösung (5%) nach Kjeldahl															
Elektrom. Kr. beim Messen der Käse															
$C_H \times 10^{-5}$ im Käse															
Unlöslich in 5 % NaCl pro g Käse in $\frac{1}{10}n$ H ₂ SO ₄ nach Kjeldahl															
% Wasser im Käse nach dem Pökeln															
% Fett in der Trockensubstanz															
% NaCl, berechnet auf Wasser im Käse															
Struktur der Käsemasse															
Ge- misch von 6 Kühen	4,83	—	—	—	4,47	0,1814	0,72	29,4 ¹⁾	0,1604	1,66	9,9	51,1	40,1	5,44	Harte Masse. Stark mit Rissen (boeckel- scheurtes) besetzt. Sehr wenig runde Löcher. Farbe hellgelb, nach weiß. Schlecht. idem. Teig ziemlich gut. Zu stark gelocht und Risse. Ein bisschen weiß. Auf Grund der Azidität hätte man eine etwas härtere Masse erwarten können. Teig vorzüglich. Etwas zu stark gelocht. Keine Risse und ziemlich weich, ohne zäh zu sein. Kurz, mit großen Rissen. Sehr schlech- tes Produkt. Teig ein wenig härter als bei 28, mit kleinen Rissen. Teig hart und weiß. Große Risse und fast keine runden Löcher Gut, hätte etwas weicher sein können. Kurz, mit großen Rissen. Sehr schlecht.
28	4,86	34,7	77,5	44,7	4,31	0,1813	0,72	29,8 ¹⁾	0,160	1,67	9,9	50,0	42,6	—	
	5,02	31,4	73,0	46,5	4,17	0,1790	0,79	27,6	0,1684	1,20	3,9	46,3	45,5	6,05	
1	5,18	30,1	83,0	55,1	4,4	0,1833	0,66	30,0 ¹⁾	0,1743	0,93	1,1	47,6	43,2	4,18	
34	4,71	32,7	67,2	41,0	4,0	0,1814	0,72	29,7 ¹⁾	0,1654	1,36	8,9	52,8	38,1	6,6	
4	5,52	35,4	78,5	44,4	3,93	0,1773	0,84	16,4	0,1665	1,30	6,3	51,8	39,3	5,07	
30	4,80	32,7	73,3	44,8	3,78	0,1749	0,92	7,6	0,1624	1,53	10,6	51,2	44,5	5,35	
16	5,08	30,9	74,0	48,0	3,71	0,1774	0,84	13,5	0,1691	1,17	3,0	50,4	39,3	4,62	
21	5,49	34,1	88,0	51,6	4,45	0,1804	0,75	23,2	— ²⁾	—	—	—	—	—	
20	5,37	34,0	75,5	44,4	3,98	0,1745	0,93	7,6	0,1613	1,60	10,1	51,0	39,1	4,81	

¹⁾ Alles gelöst.²⁾ Käse No. 21 mißlungen.

prima, aber doch sehr brauchbar. In Hinsicht auf die große Differenz im Feuchtigkeitsgehalt braucht man sich über den Unterschied in der Qualität nicht zu wundern; die gefundene Differenz muß nämlich denselben Effekt haben, wie eine solche von 0,6 Proz. Milchzucker in der Milch. Aus den Versuchen von Boekhout und Ott de Vries ist hervorgegangen¹⁾, daß ein Unterschied von 0,5 Proz. auf den Bau der Käsemasse schon einen sehr großen Einfluß ausübt. Es lassen sich noch andere Kombinationen machen; ich will mich aber auf die Hauptsache beschränken: Aus dem Vergleich des Stab 8, 9, 11 und 12 geht hervor, daß das Neutralisationsvermögen der durch Lab aus Milch gefällten Bestandteile beim Käsebereitungsprozeß nur eine untergeordnete Rolle spielt. Der Einfluß dieser Größe tritt dem Wassergehalt und vielleicht auch den Schwankungen im Fettgehalt der Trockensubstanz gegenüber ganz in den Hintergrund.

Man bedenke dabei noch, daß dieses Resultat erhalten wurde beim Verarbeiten von Milch einzelner Kühe; für Mischmilch laufen die Zahlen für das Neutralisationsvermögen begreiflicherweise noch weniger auseinander.

Durch dieses Resultat, das also nicht in Übereinstimmung ist mit der Folgerung, das ungenügende Neutralisationsvermögen der Milch sei eine der Hauptursachen vom Auftreten von kurzen Käsen, wurde meine Untersuchung in andere Richtung gelenkt. Jetzt ist die Frage zu beantworten: Durch welche Faktoren ist der Gehalt an Feuchtigkeit des Bruchs bedingt? Darüber sind schon verschiedene Daten bekannt. Tatsache ist aber, daß man in der Praxis noch öfters Schwierigkeiten erfährt infolge ungenügender Entwässerung des Bruchs. In dieser Beziehung muß ich noch einen Punkt aus obenstehender Arbeit hervorheben. Man könnte den hohen Wassergehalt und die damit parallel gehende hohe Azidität meiner Käse (für das auf der hiesigen Versuchsmolkerei gewöhnlich bereitete Produkt findet man meistens $1,1-1,2 \times 10^{-5}$) der mehr oder weniger guten Gerinnbarkeit der Milch einzelner Kühe zuschreiben. Die Gerinnungszeit war aber in allen Fällen die gleiche, denn ich variierte die verwendeten Labmengen nach der schon bestimmten Labungsfähigkeit der Milch. Es hat sich aber gezeigt, daß es nicht immer möglich ist, durch diese Vorsorge die Schwierigkeit eines zu hohen Molkegehaltes zu umgehen, wie in der Praxis wohl bekannt ist. Eine nähere Aufklärung über diesen Gegenstand läßt sich also als wünschenswert erscheinen.

Ein einziges auf diesen Punkt bezügliches Experiment möchte ich schon jetzt anführen:

Von der Milch von 32 Kühen der Versuchswirtschaft untersuchte ich einige Male die Labungsfähigkeit. Die gut und weniger gut gerinnende Milch wurde gesondert gehalten (von je 75 kg) und von zwei sehr tüchtigen Käsebereitern verkäst. Zuvor wurde die Gerinnungszeit bestimmt und die Labmenge so gewählt, daß die Milch der beiden Wannen im selben Momente dickgelegt wurde. Die Temperatur war in beiden Fällen die gleiche, aber keine Bedingung wurde gestellt bezüglich der Art der Bearbeitung. Die individuellen Eigentümlichkeiten, die hier natürlich einen großen Einfluß ausüben könnten, wurden dadurch beseitigt, daß die zwei Personen jeden Tag wechselten. Gleich nach dem Pressen wurden 2 Käse aus jeder Wanne fein gemahlen und der Wassergehalt der Masse bestimmt. Tabelle XIII enthält die gefundenen Zahlen.

¹⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 24. 1909. p. 122.

T a b e l l e X I I I .

Datum	% Fett der Milch	mg CaO in 50 Milch	Ger.-Zeit Min.	% Wasser im Bruch
7. April	A 2,42	76,4	209	{ 51,4 Mittel 51,95 52,5
	B 2,52	76,4	113	{ 49,4 „ 49,2 49,0
8. April	A 2,35	—	202	{ 51,0 „ 50,35 49,7
	B 2,55	—	126	{ 48,3 „ 48,45 48,6
10. April	A 2,40	—	204	{ 50,9 „ 50,55 50,2
	B 2,65	—	114	{ 48,8 „ 49,4 50,0
11. April	A 2,45	—	205	{ 52,1 „ 51,9 51,7
	B 2,60	—	114	{ 49,4 „ 48,5 47,6
12. April	A 2,50	78,0	204	{ 53,4 „ 52,75 52,1
	B 2,60	82,8	112	{ 48,6 „ 49,0 49,4
13. April	A 2,45	—	200	{ 54,1 „ 53,95 53,8
	B 2,60	—	107	{ 49,7 „ 49,7 49,7

Aus diesen Zahlen geht also hervor, daß es ohne besondere Maßregeln (Temperaturerhöhung oder bedeutend längere Bearbeitung) nicht leicht ist, Bruch A ebenso trocken zu erhalten als B. Die gefundenen Differenzen können cet. par. schon einen bedeutenden Unterschied im Bau des Teiges hervorrufen. Nehmen wir die mittlere Differenz der ganzen Serie (2,87 Proz.), so berechnet sich für den Unterschied im Milchzuckergehalt für einen Käse (bei gleicher Konzentration in der Milch) derselbe Wert, als wenn an einer der Wannen 5,7 Proz. des Milchvolums an Wasser zugegeben wäre. Die Versuche von Boekhout und Ott de Vries lehrten, daß ein Zusatz von 5 Proz. Wasser sich im Bau der Käsemasse schon verrät.

Nachdem aus meinen Untersuchungen hervorgegangen ist, daß eine bessere Kenntnis von den Faktoren, welche auf dem Abgeben des Wassers vom Bruch influenzieren, wünschenswert ist, beabsichtige ich, darüber Versuche anzustellen, etwa in derselben Weise, wie im vorigen Jahre die amerikanischen Forscher arbeiteten für Cheddarkäse¹). Die vorzügliche Arbeit dieser Autoren wird daher von Nutzen sein können.

Am Ende meines Aufsatzes will ich jetzt noch eine kurze Übersicht geben über die Erfolge, welche meine Untersuchungen über den Käsebereitungsprozeß geliefert haben, weil sie in verschiedenen Hinsichten abweichen von den Anschauungen, welche andere Forscher darüber haben, die noch nicht Gebrauch machten von der neueren Methodik und den neueren Auffassungen, die wir der Entwicklung der physikalischen Chemie zu verdanken haben. Es ist namentlich das neulich erschienene Werkchen Weigmans: „Mykologie der Milch“, das mich dazu veranlaßt. Beim Lesen des auf die Käse-

¹) Factors controlling the moisture content of cheese curds. (U. S. Dep. of Agr. Bur. of animal Ind. Bull. 122. 1910.)

reifung bezüglich des Kapitels springt es wohl deutlich in die Augen, daß hier der Bakteriologe das Wort hat; die Untersuchungen auf diesem Gebiete von mehr chemischer Natur, namentlich die ausgezeichneten Arbeiten amerikanischer Forscher, finden nämlich keine Berücksichtigung. In der Streitfrage über die Ursache der Peptonisation des Käsestoffs bei Hartkäsen hat Weigmann Stellung genommen gegenüber von Freudenreich, der die Lösung des Kaseins bekanntlich der Wirkung der Milchsäurefermente zuschreiben zu müssen meinte, und nicht derjenigen der peptonisierenden Bakterien. Weigmann ist auch jetzt noch der gegenteiligen Meinung, und schreibt den Säure- und labbildenden Kokken, sowie der Galaktase eine wichtige Rolle zu. Beim Lesen dieser von Weigmann gegebenen Übersicht wird man betroffen von der großen Zahl von Hilfstruppen, die in diesem Streit nach der Front gesandt wurden. Man muß gestehen, daß weder die Untersuchungen von v. Freudenreich, noch die Betrachtungen Weigmanns eine entscheidende Erklärung geben für einen der drei wichtigsten biologischen Prozesse, welche sich während der Käsereifung abspielen, nämlich die Peptonisation des Käsestoffs. Ein jeder, der sich überzeugt hat von der großen Auflösungsgeschwindigkeit des Käsestoffs in den ersten Stunden und Tagen, muß es als unwahrscheinlich betrachten, daß dies ganz oder größtenteils der Wirkung der Bakterien zuzuschreiben sein solle, denn nimmt man diese an, so könnte man eine enorme Zunahme der peptonisierenden Bakterien erwarten. v. Freudenreich fand aber, daß die Zunahme nicht stark ist und daß sie infolge der Milchsäuregärung schnell unwirksam gemacht werden. Weigmann ist der Meinung, der Einfluß der Milchsäure werde überschätzt; sind doch die peptonisierenden Bakterien der Heubazillengruppe noch bestand gegen 0,5-proz. Milchsäure, d. h. die Konzentration, welche man in eben gerinnender Milch durch Titration findet. Es schien mir wünschenswert, zu untersuchen, mit welchem reellen Säuregrade diese Konzentration von 0,5 Proz. Milchsäure, wie man es irrtümlich auszudrücken pflegt, übereinstimmt.

Zu diesem Zwecke wurde Mischmilch mit soviel Normalmilchsäure versetzt, daß eben Koagulation eintrat; der potentielle Säuregrad wurde dann durch Titration bestimmt. Ein Teil der Flüssigkeit wurde nach Zentrifugieren in einem Gerber-Apparat durch ein Gooch-Filter filtriert und im Filtrate die Wasserstoff-Ionenkonzentration in bekannter Weise gemessen.

1) 10 ccm der mit Milchsäure versetzten Milch sättigen 5,6 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH, = 0,5 Proz. Milchsäure.

$$C_H \text{ des Serums } 1,30 \times 10^{-5} \text{ n.}$$

2) 10 ccm (andere Milch) sättigen 5,65 ccm $\frac{1}{10}$ n. KOH = 0,51 Proz. Milchsäure.

$$C_H \text{ des Serums } 1,30 \times 10^{-5} \text{ n.}$$

Aus diesen Messungen geht also deutlich hervor, daß in der eben geronnenen Milch die Wasserstoff-Ionenkonzentration nur wenig höher ist als im Käse; ja es wurden selbst bei Käsen bisweilen Zahlen gefunden, welche mit den hier gefundenen übereinstimmen. Der Bau des Teiges dieser Exemplare war zwar nicht sehr gut zu nennen, es ist aber nicht anzunehmen, daß in diesen Fällen die Peptonisation ausgeblieben war. Die Analyse, welche hier folgen möge, von einem mehr, und einem weniger sauren Käse liefert den Beweis, daß die Peptonisation auch bei höherer Azidität ganz normal stattfindet.

3*

A. Normale Bereitung. B. Nachgewärmt mit einem Gemisch von 2 T. Wasser und 1 T. Molke. Die löslichen, stickstoffhaltigen Verbindungen wurden nach der früher¹⁾ beschriebenen Methode bestimmt, d. h. durch 18-stündiges Schütteln bei 25° C.

Alter 5 Wochen. (Sommer.)

A. 50 ccm Extrakt brauchen nach K j e l d a h l 29,8 ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure.

$$C_H = 1,2 \times 10^{-5} \text{ n.}$$

B. 50 ccm Extrakt brauchen nach K j e l d a h l 32,8 ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure.

$$C_H = 0,85 \times 10^{-5}.$$

Ein anderer Versuch ergab folgendes:

A. Normale Bereitung. B. Nachgewärmt mit einem Gemisch von 2 Teilen Molke und 1 Teil Wasser.

Alter 5 Wochen (Herbst).

A. 50 ccm Extrakt brauchen nach K j e l d a h l 23,7 ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure

$$C_H = 1,2 \times 10^{-5} \text{ n.}$$

B. 50 ccm Extrakt brauchen nach K j e l d a h l 25,2 ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure.

$$C_H = 0,91 \times 10^{-5} \text{ n.}$$

Besonders überzeugend wirkt schließlich folgender Versuch: Eine Menge Milch wurde in zwei gleichen Teilen verteilt, und der einen Hälfte 10 Proz. Wasser, der anderen Hälfte 1 Proz. Milchzucker zugesetzt und nachher in zwei Wannen verkäst. Nach einigen Wochen wurden die Käse untersucht.

Mit Milchzucker:

50 ccm Extrakt brauchen nach K j e l d a h l 24,6 ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure.

$$C_H = 2,48 \times 10^{-5} \text{ n.}$$

Mit Wasser:

50 ccm Extrakt brauchen nach K j e l d a h l 18,6 ccm $\frac{1}{10}$ n. Säure.

$$C_H = 0,91 \times 10^{-5} \text{ n.}$$

Ersterer war sehr kurz, noch ein wenig sauer und hatte keinen feinen Geschmack; der zweite war von ausgezeichneter Qualität, sowohl was Konsistenz des Teiges als Geschmack anbetrifft. Wie man sieht, war auch in diesem Fall eine große Menge des Käsestoffs peptonisiert, obgleich die Azidität fast das Doppelte der für eben gerinnende Milch gefundenen Größe betrug. Unter diesen Umständen kann man die Peptonisation nicht der Bakterienwirkung zuschreiben. Wenn dem so wäre, so könnte man auch immer in der spontan geronnenen Milch eine gewisse Menge Pepton erwarten; bekanntlich findet man das aber nicht.

Auch auf Grund der hier angeführten Versuche kann ich also W e i g m a n n unmöglich beistimmen. Ich glaube, daß die Streitfrage über die Hauptursache der anfänglichen Peptonisation des Käsestoffes beim Reifungsprozeß der Hartkäse jetzt wohl als gelöst betrachtet werden kann.

Die verschiedenen Untersuchungen haben nun zu den folgenden Vorstellungen geführt über das Wesen der Prozesse, welche sich während der Käsereifung abspielen.

Von dem Augenblick ab, in welchem das Lab der Milch zugesetzt wird, fängt das Labferment an, den Käsestoff zu peptonisieren. Das erste sichtbare Kennzeichen dieser Wirkung ist die Fällung des sogenannten Parakaseins als Kalksalz, das die suspendierten Phosphate und das Fett mit präzipitiert. Die Wirkung des Fermentes schreitet regelmäßig weiter unter Kontraktion (noch unaufgeklärt) des Bruchs. Bei der in der Edamerkäse-

¹⁾ Enzym-chemische Studien über die Edamerkäsereifung. (Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 26. p. 189.)

bereitung üblichen schnellen Bearbeitung des Bruchs fängt die Milchsäuregärung erst an, wenn die Käse unter der Presse sich befinden. In nur wenigen Stunden ist sie zu Ende (bei Verwendung von Reinkulturen allerdings) und der maximale Säuregrad der Masse erreicht. Dieser ist aber 50—100-mal größer als derjenige der verwendeten Milch. Infolgedessen nimmt die verdauende Wirkung des Labferments stark zu, denn sie ist dem (reellen) Säuregrade proportional. In diesem Umstande findet die überaus schnelle Lösung des Käsestoffs im ersten Reifungsstadium eine völlige Erklärung. Beim Salzen diffundiert Kochsalz in das Innere der Masse; dies hat die oben ausführlich besprochene Quellung des Teiges zur Folge zu einem Gel von mehr oder weniger starker Dispersität. Durch diese Änderung der Struktur wird der Käsestoff der Einwirkung des Labferments noch besser zugänglich, während das Enzym selbst vom Kochsalz gegen Absterben geschützt wird. Gleichzeitig mit der Wirkung des Labferments werden die Abbauprodukte des Parakaseins von den Bakterien zersetzt. Dies geht daraus hervor, daß in einem gut reifenden Käse in einigen Tagen mehr lösliche stickstoffhaltige Verbindungen gebildet werden, als in einem aus aseptisch gemolkener Milch bereiteten Käse. In letzterem stellt sich bald ein Gleichgewichtszustand ein, welcher in ersterem durch die Tätigkeit der Bakterien zerstört wird; die Art der geformten Produkte (nicht durch Wolframsäure fällbar) weist darauf hin. Wenn es die Abbauprodukte des Kaseins sind, aus welchen durch Bakterienwirkung die Geruch- und Geschmack bildenden Stoffe entstehen bei der Käsereifung, so ist es angebracht, die Reaktionsprodukte der Labwirkung als Nährboden anzuwenden bei der Suche nach den eigentlichen Reifungsbakterien. Boekhout und Ott de Vries wählten schon vor Jahren diesen Weg, und machten mehrere Versuche mit Käsegelatine. Hier liegt aber die Möglichkeit vor, daß die in einem solchen Nährboden sich von vornherein vorfindenden Stoffwechselprodukte dem Wachstum der geimpften Bakterien ein Hindernis stellen. Es scheint also wünschenswert, Versuche mit oben genanntem Nährboden anzustellen. In Zusammenarbeit mit der bakteriologischen Abteilung der hiesigen Versuchsstation hoffe ich, in dieser Richtung nähere Versuche auszuführen; die Sterilisation der Lösungen kann dann mittels ultravioletten Strahlen (Quarz-Quecksilberlampe) erbracht werden, um der Denaturierung des Eiweißes möglichst vorzubeugen. Durch Bestrahlung der Flüssigkeiten in bewegten Quarzröhrchen konnte ich vollkommene Sterilisation erhalten.

Zusammenfassung.

Es wurde eine kurze Übersicht gegeben von den bisher ausgeführten Untersuchungen über die Struktur des Käseteiges von Hartkäsen. Die Erscheinung, daß man bald eine harte, spröde, bald eine weiche Käsemasse erhält, hat bis jetzt keine befriedigende Erklärung gefunden. Es wurde darauf hingewiesen, daß in der Literatur über den Gegenstand eine Verwirrung besteht, die zu nicht stichhaltigen Schlüssen geführt hat. Die von den holländischen Forschern in jüngster Zeit herangezogenen Erklärungsversuche amerikanischer Autoren waren von letzteren schon lange widerrufen.

Ein tiefergehendes Studium der vorliegenden Frage ließ sich also als wünschenswert erscheinen.

Die Untersuchung umfaßte folgende drei Punkte:

I. Die Bindung von Milchsäure durch Kasein.

II. Der Zusammenhang vom Bau der Käsemasse mit der Azidität und der Kochsalzkonzentration.

III. Das Neutralisationsvermögen der durch Lab aus Milch niedergeschlagenen Bestandteile.

I. Mittels physikalisch-chemischer Methoden wurde dargetan, daß das Kasein eine gewisse Menge Milchsäure zu binden vermag unter Bildung von Kaseinlaktat, und zwar verbindet es sich mit 4,25 Proz. seines Gewichts an Milchsäure. Das Salz wird durch Wasser stark hydrolysiert; die Hydrolyse gibt sich durch mehr oder weniger starke Opaleszenz kund. Es konnte festgestellt werden, daß die Bindung einer solchen Menge Milchsäure die völlige Erklärung abgibt für die früher gefundene niedrige Azidität der Edamerkäse. Es liegt kein Grund vor, zu unterscheiden zwischen Kaseinmono- und -bilaktat. Die erhaltenen Resultate machen es wahrscheinlich, daß in der Milch ein Calciumphosphokaseinat gelöst ist, so wie es von Hammarsten schon vor längerer Zeit ausgesprochen wurde.

II. Es konnte festgestellt werden, daß die mehr oder weniger starke Quellung der Käsemasse beim Vermischen mit Milchsäure und 5 Proz. Kochsalz eine Funktion der Wasserstoff-Ionenkonzentration ist. Bei niedrigem Gehalt an H-Ionen quillt die Masse stark, bei höherem Gehalt nur wenig auf. Aus den für diese Funktion gezeichneten Kurven ist zu ersehen, daß bei einer Wasserstoff-Ionenkonzentration von $1 \text{ à } 1,1 \times 10^{-5} \text{ n.}$ die Löslichkeit und die damit gepaarte Quellung des Käsestoffs nur noch gering ist und dies ist eben die Konzentration, bei welcher die Käsemasse der bereiteten Käse anfängt, hart und spröde, nicht geschmeidig zu werden. Bei den H-Ionenmessungen in Käsen wurde bei Konzentrationen von $0,70 \text{ à } 0,95 \times 10^{-5} \text{ n.}$ immer ein vorzüglicher, homogener Teig gefunden.

Der Käsefehler „kurz“ ist also als eine typische kolloidchemische Erscheinung zu betrachten: Das ungenügende Quellen des Calciumlaktokaseinats unter dem Einfluß von Kochsalz und Wasserstoff-Ionen.

Es wurde weiter der Einfluß der Kochsalzkonzentration der Käsefeuchtigkeit auf die Quellung des Teiges untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß die maximale Quellung eintritt bei derjenigen Konzentration, welche man in der Praxis als normal findet, nämlich ± 5 Proz. Bei niedrigerem und bei höherem Gehalt nimmt die Quellbarkeit ab. Aus

der für diese Funktion gefundenen Kurve war sogleich die Ursache des Auftretens des sogenannten „Salzrandes“ bei Edamerkäsen herzuleiten. Bei einem Gehalt von 10–15 Proz. Kochsalz in der Käsefeuchtigkeit ist vom Aufquellen des Kaseins nicht mehr die Rede. Auch diese Erscheinung ist also als eine kolloidchemische, und nicht, wie man früher meinte, als eine bakteriologische zu betrachten.

Weiter wurde darauf hingewiesen, daß die Bildung einer zu dicken Rinde ebenfalls eine einfache Erklärung findet durch die Eigenschaft von Gels, beim Eintrocknen eine hornartige Substanz zu hinterlassen. Dadurch wird die Beobachtung erklärt, daß man bei wenig gequollenen Käsen nur selten eine zu dicke Rinde antrifft.

III. Von der Voraussetzung ausgehend, daß in einzelnen Fällen die zu hohe Acidität der Käsemasse vielleicht dem ungenügenden Neutralisationsvermögen der durch Lab aus der Milch gefällten Bestandteile zuzuschreiben wäre, wurde eine Methode ausgearbeitet, um diese Größe genau bestimmen zu können. Für die Milch einzelner Kühe wurden deutliche Differenzen gefunden in dieser Hinsicht. Beim Verkäsen dieser Milch stellte sich aber heraus, daß die gefundene Acidität der Käsemasse keineswegs dem Neutralisationsvermögen umgekehrt proportional ausfiel, wie man hätte erwarten können, wenn letzterer Größe eine überwiegende Rolle zukäme in dem Neutralisationsprozeß, der sich im Käse abspielt. Diese tritt aber ganz in den Hintergrund dem Einfluß der Differenz im Feuchtigkeitsgehalt des Bruchs gegenüber. Daß man bei früheren Untersuchungen aus kalkarmer Milch kurze Käse herstellte, ist nicht dem geringeren Neutralisationsvermögen solcher Milch zuzuschreiben, sondern dem Umstande, daß Mangel an Kalksalzen das Festhalten von zu viel Molke zur Folge hat, infolgedessen ein saurer Käse entsteht. Auch der Gehalt an Milchzucker der Milch spielt eine wichtige Rolle.

Auf Grund der bisher erhaltenen Resultate wurden Versuche angestellt zur Bestimmung der verschiedenen Faktoren, welche den Feuchtigkeitsgehalt der Käsemasse beherrschen. Darüber wird später berichtet werden.

Schließlich wurde noch dargetan, welche Vorstellung man sich auf Grund der neuesten physikalisch-chemischen Untersuchungen von den Vorgängen bei der Reifung der Hartkäse zu machen hat, und es wurden noch einige Versuche mitgeteilt zur Widerlegung der Auffassung, die Peptonisation des

Käsestoffe sei der Wirkung peptonisierender Bakterien zuzuschreiben.

Figurenerklärung.

Fig. I. Der Zusammenhang von Quellung (Löslichkeit) der Käsemasse in 5, 3 und 1 proz. Kochsalzlösung und Wasserstoffionen-Konzentration.

Fig. II. Der Zusammenhang von Quellung (Löslichkeit) der Käsemasse in 5, 7,5, 10 und 15 proz. Kochsalzlösung und Wasserstoffionen-Konzentration.

Fig. III. Die Quellung (Löslichkeit) der Käsemasse als Funktion der Kochsalz-Konzentration bei der Acidität eines guten Edamerkäses ($0,85 \times 10^{-5}$ n. H).

Nachdruck verboten.

Heterosporium variabile Cke., its relation to Spinacia oleracea and environmental factors.

[Paper No. 12 from the Laboratory of Plant Pathology, Virginia Agr. Exp. Sta. Blacksburg, Va., U. S. A.]

By Howard S. Reed and J. S. Cooley.

Mit 9 Fig. i. Text.

I. Occurrence.

Heterosporium variabile causes a leaf spot disease of *Spinacia oleracea* which quickly spreads over considerable areas in Virginia. The leaves which are affected by the disease become filled with sooty black spots between which the tissue sooner or later dies (Fig. 1). The presence of these spots renders the leaves unsalable even though the leaves are not killed at the time of harvest.

The disease caused by the *Heterosporium* fungus does not ordinarily become severe until the spinach plants have attained considerable size. The spinach on which this fungus is found is grown in open fields in the region about the Hampton Roads during the winter months. Practically all the spinach grown in this region belongs to the thick, curled leaf type and is commonly known as „Norfolk Savoy“. The disease does not usually make its appearance before January, but from that time on to the close of the spinach season in March, it becomes more or less prevalent, depending upon various factors. So far as known, the disease has not become prevalent in this state on spinach grown at other seasons of the year than the winter¹).

II. Historical.

This particular fungus was first described, (under its present name at least), by Cooke²), in 1877, although he seems earlier³), to have described it and distributed exsiccati under the name of *Helminthosporium variabile*.

Describing *Heterosporium variabile*, he says:

„Epiphyllum, in maculis sub-orbicularibus erumpens, Floccis elongatis, fasciculatis, flexuosis, nodosis, tenuibus, Sporis 1—3 septatis, echinulatis

¹) In all this work the writers are under many lasting obligations to Professor T. C. Johnson, Director of the Virginia Truck Experiment Station, for his aid and many valuable data on the field problems, which he has furnished.

²) Cooke, M. C., On *Heterosporium*. (Grevillea. Vol. 5. 1877. p. 123.)

³) Fungi Brit. II. No. 360.

(Syn.) *Helminthosporium variable*, C. „Fungi Britt“. II. No. 360.“

„On leaves of *Spinacia* (Rev. J. E. Vise) Forming definite, somewhat orbicular or irregular spots on fading leaves. Flocci more slender than in either of the foregoing, and altogether more delicate, Spores .02—.05 X .007—.01 mm.“

A comprehensive description of the fungous diseases of spinach in New Jersey was given by Halsted in 1890¹). *H. variable* is not mentioned among them, and it is possible that, in view of facts to be related in the present paper, this fungus does not seriously, if at all, effect spinach grown under glass. On the other hand, it is possible that *H. variable* may have been one of the „Black Moulds“ alluded to in Halsted's paper.

Clinton²) describes *H. variable* on leaves of spinach collected in the markets of New Haven, Conn. in January. An examination of specimens kindly furnished by him, established the identity of the fungus he described with the *Heterosporium* investigated by the writers. Indeed, it is possible that Clinton's specimens grew in Virginia trucking district.

In 1910 the senior author of this paper described the injury caused by the disease³), and also presented a paper describing the more important features of the *Heterosporium* before the Boston meeting of the American Association for the Advancement of Science⁴).



Fig. 1. Spinach leaves infected with *Heterosporium variable*.

III. Ecological Relations of the Fungus.

A. The Relation of *H. variable* to Spinach.

1. The parasitism of *Heterosporium variable*.

The investigations we have made upon this fungus indicate that it is

¹) Halsted, B. D., Some fungous diseases of the spinach. (Bull. 70. New Jersey Agricult. Experim. Stat. 1890.)

²) Clinton, G. P., Notes on Fungous Diseases. (Rep. Conn. Agr. Exp. Stat. 1905. p. 275.)

³) Circular No. 7, revised edition, Virginia Agricult. Exp. Stat. 1910.

⁴) Science. Vol. 31. 1910. p. 638. See also contribution to Stevens and Hall, The Diseases of Economic Plants. (MacMillan Co.) 1910.

not a strong parasite. For a long time it was scarcely possible to obtain artificial inoculations in the greenhouse, where spinach plants were grown under what were considered to be nearly optimum conditions. Inoculation experiments were made under varying conditions of moisture and at different stages of development of the spinach, but with few cases of infection. It was found, however, that late planted spinach kept out of doors in November and December during increasingly severe weather exhibited a much greater proportion of infections after inoculations, and further observation showed that the leaves which were somewhat injured by cold or other unfavorable conditions were more susceptible to infection.

In the fields in the trucking regions the disease does not usually appear until late December or January, i. e. after the cold winds have somewhat injured the spinach leaves, and from that time on the disease is liable to become worse, reaching a maximum in March¹). This fact indicates the weak parasitism of the *Heterosporium* fungus. It is quite evident that the pathological conditions at present designated by the term „Malnutrition“²) also weaken spinach plants and afford a condition which favors the entrance of the *Heterosporium* fungus. In October, 1910, a field was studied where infection by *Heterosporium* had followed severe injury to spinach by larvae of the Southern Cabbage Looper (*Autographa brassicae*, Riley). In many cases the fungus was found growing on the margins of the holes made by the larvae. It also appears that this and perhaps other fungi are disseminated by the aphids which often abound upon the spinach plants during the first half of the season, i. e., up to January.

The following experiments have been made to test further the validity of these ideas.

Experiment I. Several potted spinach plants were brought into the laboratory and exposed to chloroform vapor for 5 and 10 minute intervals under bell jars. Immediately after removing the bell jars, the spinach leaves were inoculated with *Heterosporium* spores from a pure culture and the bell jars (without chloroform vapor, but lined with wet filter paper to afford a moist atmosphere) replaced over the pots. After 10—14 days spots began to appear and a week later spores of the *Heterosporium* were found on these leaves.

Experiment II. Several rows of young spinach plants in the greenhouse were selected and individual rows sprayed with each of the following toxic solutions $\frac{m}{7}$ ammonium hydrate, $\frac{m}{750}$ hydrochloric acid, $\frac{m}{1000}$ formalin, 50 % ethyl alcohol, and sulphurous acid of unknown strength. These poisons were selected because of their volatility. The solutions were applied by an atomizer until the spinach leaves were covered with good sized drops. On the following day after the solutions had entirely evaporated the numerous small circular spots of dead tissue in the leaves gave evidence of the injury caused by the toxic solutions. The same plants were then sprayed with distilled water containing a suspension of spores of *H. variable* from a pure culture. One week later the dead spots began to show the development of a fungus which was found upon microscopical examination to be *Heterosporium variable*. The fungus was not found, however, except on the plants sprayed with ammonium hydrate, hydrochloric acid and sulphurous acid and

¹) The specimens shown in Fig. 1 were collected March 18th. 1909.

²) Harter, L. L., Virginia Truck Exp. Stat. Bull. 1. 1909.

in these cases was found only in the dead spots in the leaves. Check plants inoculated without previous treatment remained free from *H. variabile*.

From this experiment it would seem that *H. variabile* is unable to infect healthy plants growing under optimum conditions, and these injured plants are the only ones we have ever succeeded in inoculating with *Heterosporium* in the greenhouse.

Infection of the spinach leaf appears then to occur only where some injury has caused the death of some cells of the leaf, or at least has weakened their vitality. Once within the leaf the mycelium passes without apparent difficulty from cell to cell. Haustoria have not been observed, but a characteristic mycelium is seen in the cells teased from an infected leaf. Microtome sections of the infected cells show that the mycelium develops chiefly in the parietal protoplasm of the cells. This would imply that the principal injury caused by the parasite is caused by the abstraction of nutrient substances from the cell, but it will be shown later that there may also be injury from the formation of inimical chemical substances.

The effect of the fungus upon the plant is manifest by a gradual fading and drooping of its leaves beginning with the older (outer) and progressing to the younger leaves. Generally only the older leaves are killed, but in cases of bad infection all the leaves on the plant may perish with the disease.

A positive toxic action of the fungus upon the cells of the spinach leaf was demonstrated by the following experiment.

Experiment III. A large Erlenmeyer flask (capacity 1.1 L.) contained 250 cc. of Raulin's solution upon which *H. variabile* had been grown for six weeks. The first „mat“ of mycelium was removed when it ceased to increase perceptibly in size and a second growth propagated from spores remaining. When this „mat“ ceased to grow, the liquid was filtered through paper and divided into two portions. One portion was boiled for 10 minutes and cooled. Razor sections of a young spinach leaf were prepared and dropped into both portions of the old culture liquid. After five minutes these sections were withdrawn and examined (mounted in a drop of their appropriate solution) microscopically. In the cells which had lain in the boiled solution, no changes could be seen, but in cells which had lain in the unboiled solution, the parietal protoplasmic layer was shrunken away from the cell wall over most of its surface. When sections containing such injured cells were transferred to distilled water or boiled culture liquid their protoplasmic contents took up their normal position along the cells walls. This experiment seems to indicate that the fungus produced a labile toxic compound which was able to injure cells of a healthy spinach leaf, and that the toxic property vanished after heating. This body is probably an enzyme. Enzymes were present in the culture solutions examined, but the toxic agent has not yet been identified as an enzyme.

B. Other fungi associated with *Heterosporium variabile*.

That the fungus under discussion is not the only one infecting spinach leaves was one of the first things we determined in undertaking this work. During the progress of the study, it has been found that these other fungi may influence, to some extent, the development of the *Heterosporium*, therefore, it seems fitting that some mention be made of them¹).

¹) It seems worthy of remark that we have never found the spinach anthracnose caused by *Colletotrichum spinaceae* Ell. and Hals. upon the Norfolk

The spinach mildew caused by infection with *Peronospora effusa* frequently causes moderate injury during the early part of the season, i. e. during October and November. The occurrence of this disease is indicated by whitish areas having a water soaked appearance (See Figure 2). The lower surface of these spots has a furry or velvety appearance, which is, however, usually filled with sand grains which have been beaten up by rains and have lodged in this furry layer. As the tissue of the leaf is killed by the *Peronospora* it turns yellowish brown and frequently the center of the infected spot drops out.

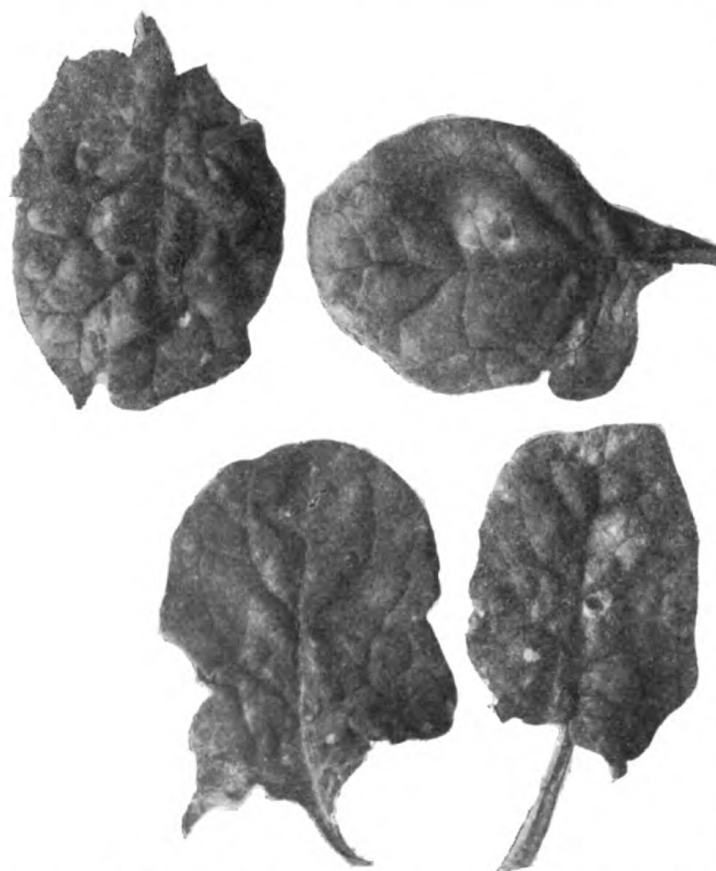


Fig. 2. Spinach leaves infected with *Peronospora effusa*. Halsted in the paper cited.

Caspary's¹⁾ classification as adopted by Fischer²⁾ places this spinach parasite in the variety minor under *P. effusa*. This classification based upon characters of the conidiophore and conidia appears to be consonant with our observations. In another respect our observations do not agree with what seems to be true of the fungus in Europe. Magnus³⁾ states that this fungus occurring on plants at the onset of winter lives through

spinach, although it appeared spontaneously upon spinach grown in the greenhouse at Blacksburg in the spring of 1909. It would appear that this fungus occurs more commonly on spinach grown under glass, than under the more adverse climate conditions prevailing in the spinach fields during the winter.

¹⁾ Caspary, Monatsber. Berlin. Akad. 1855. p. 329. cited by Fischer, l. c.

²⁾ Fischer in Rabenhorsts Krypt. Flora. Bd. 4. 1892. p. 567.

³⁾ Verh. bot. Ver. Prov. Brandenb. Bd. 29. 1897. p. 14, cited by Fischer, l. c.

the winter with them and in such cases does not produce oospores. The reverse of this condition appears to be true in Virginia. Our observations on the oospores are confirmed by Duggar's¹⁾ statement that the oospores of *P. effusa* are commonly found in quantity.

A species of *Macrosporium*, which we have not identified, frequently occurs on spinach leaves infected with *Heterosporium*²⁾. Owing to more or less similarity in the character of its sori, its mycelia, and its conidiophores, continual caution was necessary to avoid confusing it with the *Heterosporium* fungus. In itself the *Macrosporium* was not found seriously to affect the spinach leaves. In the field it may usually be found quite abundant upon the refuse plants and trimmings left after harvesting the spinach crop, especially if the rainfall be abundant enough to keep them moist.

Another fungus, evidently a member of the *Sphaeropsidales*, has been found more or less prevalent upon the spinach leaves studied. The fungus appears to produce circular or sub-circular brown spots with pink margins; in these spots pycnidia containing one celled hyaline spores are often abundant. The fungus has been isolated and grown in pure cultures. Possibly it is identical with *Phyllosticta chenopodii* Sacc. Its characters are reserved for further study. Its relation to spinach plants seems to be much the same as that of *Macrosporium*, i. e. an epiphyte on plant organs which have ceased to grow or are already deteriorating.

The observations which we have been able to make lead us to the conclusion that these three fungi, independently of any direct effect they may have as parasites or otherwise, often cause injuries to the spinach leaves which favor their infection with *Heterosporium variabile*. It does not appear however, that (excepting *Peronospora effusa*) they cause much direct injury as parasites.

C. Relation of *Heterosporium* to the presence of Vegetable Débris on the Fields.

Observations were made on the fields, in which spinach was cultivated, for possible modes by which the *Heterosporium* fungus might be carried over from one season to another. There is always more or less refuse remaining from the harvest of spinach and since this consists largely of the old, nonsucculent leaves, it frequently contains material amounts of the *Heterosporium* fungus. Undoubtedly quantities of spores are thus given opportunity to mature and find their way into the soil.

Owing, however, to the rapidity with which the spinach refuse disintegrates, there is little opportunity for interseason growth of the *Heterosporium* fungus. We found, however, that in most of the fields there was more or less vegetable debris of a more persistent character the season through. In most cases this debris consisted mainly of corn-stalks, sorghum stalks, or millet stubble. Samples of corn and sorghum stalks subjected to microscopic examination showed numerous black fungi and isolation cultures brought out a fungus which appears to be a species of *Heterosporium*.

¹⁾ Duggar, B. M., Fungous Diseases of Plants. 1909. p. 164.

²⁾ Clinton, Rep. Connecticut Agr. Exp. Stat. 1905. p. 275 found an *Alternaria* found on the older leaves of market spinach, and mentions its similarity in general appearance to the *Heterosporium* disease.

D. Effect of Soil and Weather Conditions.

The importance of these factors has been foreshadowed in the preceding pages. The *Heterosporium* disease does not develop to any great extent, except under moist conditions. During the dry winter of 1909—1910, the disease was not at all serious. It is of course favored by cold weather which is severe enough to cause more or less injury to spinach leaves; on the other hand, mild, damp, autumn weather, favorable to the growth of *Peronospora effusa*, would be favorable later for the *Heterosporium* disease.

Soil conditions may also predispose the plants to the disease. In many of the fields there are conditions which are at present known as „Malnutrition“. The trouble is especially prone to appear when the land is, successively cultivated in spinach. It is manifested by stunted growth and yellow plants in areas varying from two to twenty meters in diameter¹). The dead or languishing leaves of these unhealthy plants afford suitable condition for the development of the *Heterosporium* disease.

IV. The morphology of *Heterosporium variabile*.

The morphology of the fungus, as indicated by the etymology, both of the generic and specific names, is quite inconstant. This causes some difficulty in comparing the fungus with the descriptions in the literature. By the use of mature specimens and pure cultures it was possible, however, to get plenty of reliable material to work upon.

The presence of the fungus upon the spinach is shown in course of time by numerous circular, or sub-circular, sooty brown spots, having a definite outline and margin (Fig. 1) on both sides of the spinach leaf, and surrounded by a brown area of dead leaf tissue. When these spots first appear they have a light color, but they continue to become darker with age until they are a velvety, olive-black color. This color is largely due to the spores of the fungus. Immediately surrounding this diseased area is a definite indenture or furrow, while immediately surrounding this furrow is a raised ring. The raised border seems always to surround the spot and is in the apparently sound tissue of the leaf. The individual spots measure from 2 to 4 mm. in diameter, but the spots frequently coalesce and thus become larger and more irregular. The outer and older leaves are commonly much more infected with disease than the younger leaves at the center of the plant.

The aspect of the younger sori may be illustrated by the following description of spinach leaves infected with *Heterosporium*, which were collected in November 1910.

The diseased spots are circular or sub-circular and slightly elevated, the elevation in some cases being on both sides of the leaf. The elevated spots are sooty gray at first, the gray color being due to the cuticle. As the cuticle disintegrates and disappears the spot becomes darker till it has a velvety black appearance. In the early stages, the sooty conidia and conidiophores may be observed through the cracks in the cuticle. The texture of the elevated cushion is more compact than the surrounding tissue of the leaf. This gray cushion is surrounded by a margin of dull brownish yellow leaf tissue. The diameter of the cushion is usually about 1—2 mm. and the diameter of the surrounding zone of dead tissue about 1 mm.

¹) For the details of this trouble the reader is referred to a preliminary account by Harter, L. L., Bull. I. Va. Truck Exper. Stat. 1909.

The mycelium¹⁾ consists of septate, branching hyphae, which in the spinach leaf cells grow principally in the parietal layer of protoplasm. (Fig. 3.) The cells of the hyphae are olive-green in color, and, in the host plant, are more or less irregular in shape, although generally cylindrical or spherical, their contents being granular and often containing oil-drops. These spherical or cylindrical cells measure 5—10 X 7—20 microns. In cultures on artificial media the cells of the hyphae are more regularly cylindrical in form and thinner walled, at least in the juvenile stages. Later, if there be a tendency for stroma formation, the cells become thick walled and more or less spherical in form. (Fig. 4.)

Conidiophores proceed vertically from the cracks in the epidermis of young diseased spots; in older spots from the pulvinate masses of mycelium.

After the young conidiophore has grown from 30—50 microns, a typical spore is formed at the apex, it being borne on a very small and short filament or pedicel. (Fig. 5.) After this spore has been abjoined, the conidiophore seems

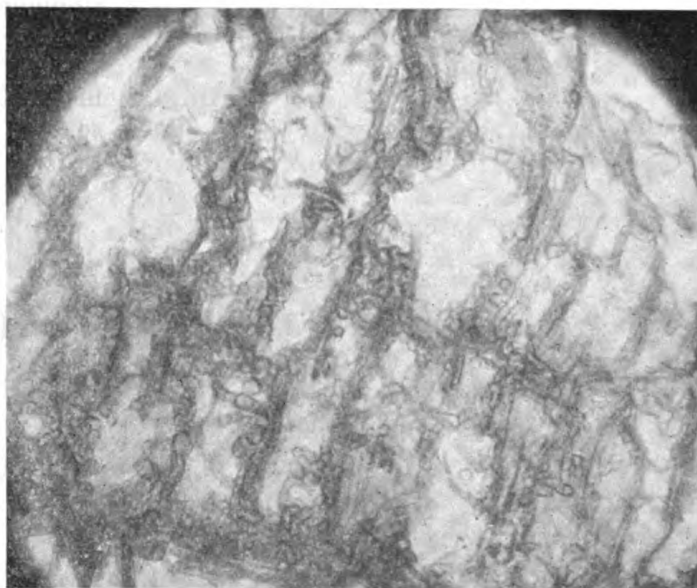


Fig. 3. Microphotograph of a section of a spinach leaf showing the *Heterosporium* fungus in the leaf-cells.

incapable of continuing its growth from the apex. The conidiophore, however, grows on from a lateral point just back of the apex on which the spore was produced, thus forming a geniculation. This conidiophore grown on for 15—30 microns and another spore is formed in similar manner to the first, and so on till several spores have been given off, and, hence, the conidiophore shows several of these characteristic geniculations. It is evident, therefore,

¹⁾ Microtome Sections. Portions of diseased spinach were killed in chrom-acetic acid and passed through the alcohols and xylols and imbedded in paraffin in the usual method. Microtome sections of this material were fixed with 0.5 per cent gelatine water and stained with Delafield's Haematoxylin or Haematoxylin and Eosin. The latter stain makes a good contrast and on the whole, gave better results than any of the other stains employed. From 8—10 microns proved to be the best thickness for showing the internal mycelium, while 12—14 microns seemed to be the best thickness for showing the conidiophores.

Glycerine Jelly Preparations. Diseased portions of leaves killed in chrom-acetic acid or 4 per cent formaldehyde were washed and stained for five minutes and transferred to 20 per cent glycerine which was allowed to concentrate. When the glycerine had sufficiently concentrated, the material was teased up and transferred to a slide with a drop of melted glycerine jelly. This proved a good method for preserving the spores for study.

that the conidiophore varies in length according to the number of spores abjoined; and, hence, according to the number of geniculations.

The conidia of the fungus are of considerable interest. The mature spore is typically 3—5 celled, cylindrical with rounded or slightly pointed ends, sooty or olive green, and spiny over its entire surface. Such a spore is represented in the microphotograph shown in Figure 6.

At or near the time of maturity, the spore separates very readily from the conidiophore and consequently it is rare to find spores in place when

microscopical examination of material is made. It is more common to find spores in situ on material taken from artificial cultures than on material taken from the spinach leaf.

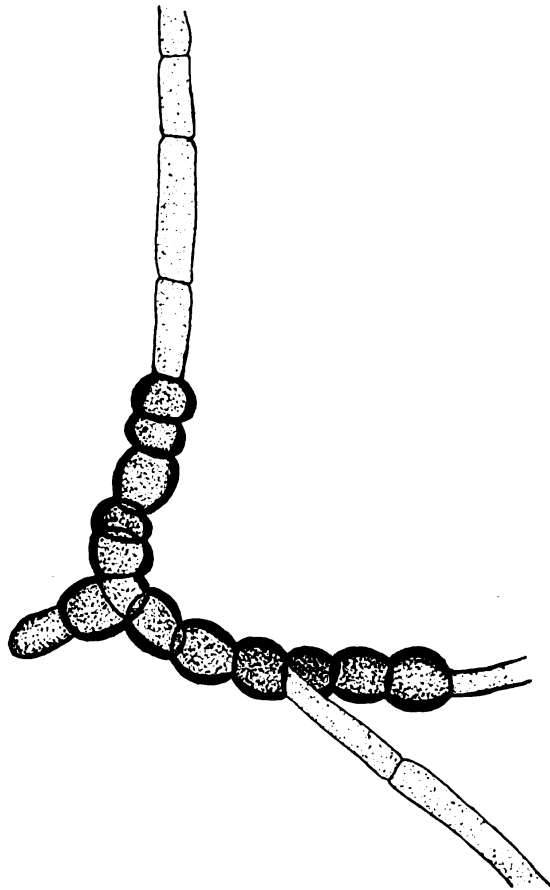


Fig. 4. Mycelium of the *Heterosporium* fungus showing the normal and the thick-walled cells characteristic of stroma formation. Taken from Lima Bean Agar.

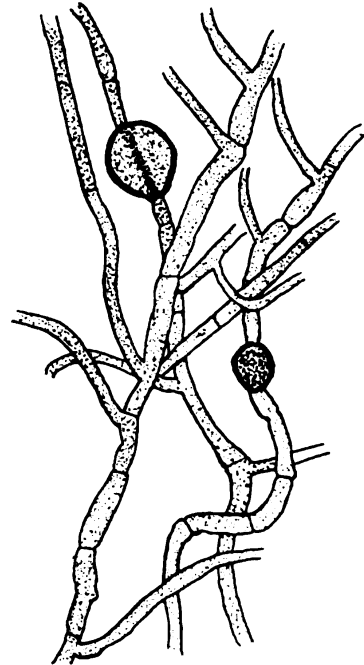


Fig. 4a. Origin of thick walled cells characteristic of stromata of *H. variabile*.

Spores containing one or two cells are numerous or abundant according to the environment and age of the fungus. From young leaf sori and most cultures on artificial media, the spores contain one or two cells. From older leaf sori and certain media such as sterilized bean pods the majority of the spores contain more than two cells and have the typical spiny surface. It was found possible by continuing the cultivation of the fungus upon sterilized media (hence as a saprophyte) for many generations, more or less completely to change the character of the spore to that of a one celled, non-spiny body. This work was all carefully checked to verify the purity of the cultures and we were assured that the results as above stated dealt actually with *H. variabile* and were correct.

The majority of the spores on liquid media of conventional concentration were produced by budding, while on very dilute media such as 1—2 per cent Raulin's solution many of the spores were produced on short specialized hyphal branches. On solid media the majority of the spores were also produced by budding, but some were formed on specialized hyphal branches or were abjoined promiscuously from the ends of hyphae. The unicellular and multicellular cylindrical spores are apparently produced on the ends of hyphae or on specialized hyphal branches, while the unicellular oval spores are produced by budding.

V. Physiological relations.

Under this heading some data will be presented which show the behavior of the fungus when cultivated upon various media and under various conditions. Several interesting relationships have been observed and they show that a wide variability in the characters of the spores and germination may be induced on various media.

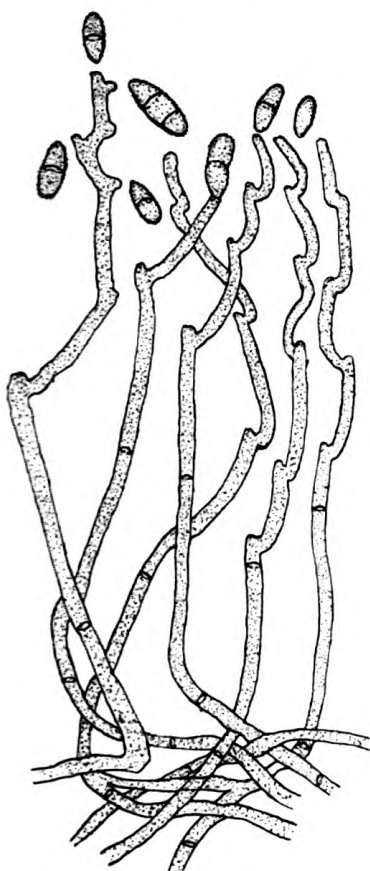


Fig. 5. Conidia and conidiophores of *H. variabile* showing the geniculate form.

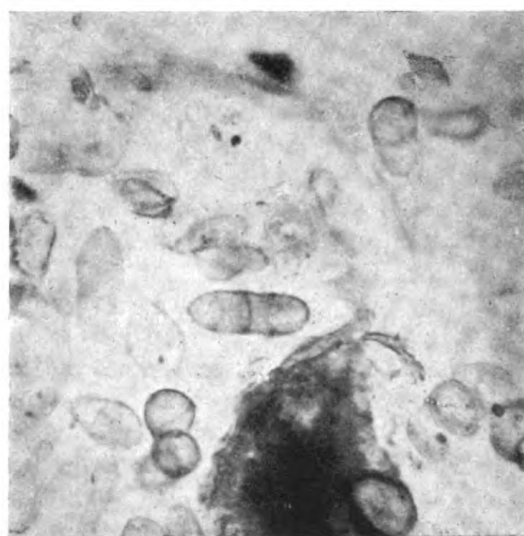


Fig. 6. Microphotograph of spores of *H. variabile*.

The solid media employed.

Lima bean agar¹⁾ was made by allowing 50 grams of lima bean (*Phaseolus lunatus*) meal to simmer for 2 hours in 500 cc. of water, then strained through a cloth and 1— $\frac{1}{2}$ or 2 per cent of agar added. This agar was then melted, filtered through cotton and sterilized fractionally on three successive days. As a culture medium, it gives excellent results with most fungi.

Corn meal agar was made in the same manner as the lima bean agar and also gave good results.

¹⁾ For the original method of preparation cf. Clinton, Rept. Conn. Agric. Exper. Stat. 1908. p. 898 (issued 1909).

S p i n a c h a g a r was made by steeping 100 grams of young spinach leaves in 500 cc. of water. After this was well steeped, the decoction was filtered off and 2 per cent of agar added. This was now melted, filtered through cotton, and fractionally sterilized. The fungus grew well on this medium, but it easily became contaminated with bacteria. It proved especially valuable as a source of spores for the hanging drop cultures, since the fungus grew very short aerial hyphae on this medium.

P r u n e a g a r was made by boiling 100 grams of dried prunes in 600 cc. of water. To the filtered decoction $1\frac{1}{2}$ per cent of agar was added, and then cooked, filtered through cotton, and sterilized as the above. *H e t e r o - s p o r i u m* not only grows profusely on this medium, but it is very easy to prevent bacterial contamination.

F e r m i s o l u t i o n a g a r was made by adding 2 per cent of agar to standard *F e r m i* solution.

Various cooked vegetables were employed and served well as culture media. Substances like cornmeal, rice, shredded cocoanut, spinach leaves, etc., were placed in test-tubes, water added, and cooked by the moist heat of the sterilizer.

L i q u i d M e d i a E m p l o y e d .

Several liquid media, both synthetic and non-synthetic, were employed. Of the former, the formulae of *R a u l i n* and *F e r m i* were chosen. The non-synthetic media employed were bean decoction and spinach decoctions. Bean decoction was made by cooking green pods of *P h a s e o l u s v u l g a r i s* in water. Solution A. was made by neutralizing spinach decoction and making it very slightly acid to litmus with sulphuric acid. To this, 1 per cent of ammonium nitrate was added. Solution B. was made in the same manner, except that 1 per cent peptone was added instead of ammonium nitrate.

H a n g i n g d r o p C u l t u r e s . In order to determine the manner of spore formation hanging drop cultures were used. Improved *v a n T i e g h e m* cells, 1.3 cm in diameter, were dipped in paraffin and stuck to object slides. The well thus made was filled about one-fourth full of distilled water. On each of a number of sterilized cover-glasses was placed a small drop of sterile bean decoction, which had been acidified with $\frac{1}{10}$ of 1 per cent acetic acid. This acid would kill any bacterial contamination commonly present and at the same time it would not influence the growth of the fungus as will be noted later. This drop was then inoculated with spores from a pure culture of *H e t e r o s p o r i u m* and the cover glass inverted over the well. The upper rim of the glass rings having been lightly spread with vaseline to make the cell moisture proof.

R e l a t i o n s o f t h e f u n g u s t o d i f f e r e n t m e d i a .

A full account of the development of the fungus on corn meal and prune agar will be given since the growth on these two media may, in a general sense, be taken as typical. The salient features of the growth on the other media used will be given below in tabulated form.

O n C o r n M e a l A g a r . Tubes of corn meal agar were inoculated and kept at a uniform temperature of 20 degrees C. On the next day after inoculation there were slight signs of growth, thus showing that the spores had germinated. On the second day after inoculation short, aerial hyphae

appeared along the course of the inoculating wire. The majority of These hyphae were olive green and being interspersed with gray hyphae they gave a dirty green color to the culture. On the fourth day after inoculation, the whole slant was covered with a grayish green mould on which there were numbers of spores. The mycelium was 4—5 microns in diameter. The aerial hyphae were quite short. The spores were at this time quite granular, having rather large and irregular granules. The majority of the spores were at that time cylindrical, but some spherical spores were being formed by budding. This budding will be more fully discussed below.

After five days a black stroma had begun to cover the surface of the agar and the heavy, warty mycelium with thick walls, had begun to form, but did not attain maturity until after about a week. This stroma gets heavier with age until it occupies a considerable portion of the agar. Although the stroma is black when seen in mass, yet when the individual strands of which it is composed, are examined microscopically, they are a dark olivaceous brown. The mycelial cells which compose this stroma are frequently, though not always, short and very heavy walled, (see figure 4) measuring $7-11 \times 10-16$ microns in diameter and length respectively.

After two or three months the surface of the agar was covered with a heavy, felty, black mass of spores and aerial mycelium. The green color which was so characteristic of the early stage was then absent. The stroma was developing into a black, carbonaceous mass, having no distinct mycelial strands, the spores being a dark brown and showing heavy and distinct walls. The unicellular oval and oblong spores were still in the majority, but there were quite a number of uniseptate and some biseptate spores.

Table I.
Growth of mycelium of *Heterosporium variable* on different media.

	Medium	Stroma	Granules	Color	Quantity	Heavy walled cells
Agar	Spinach agar	P.	a.	green	abundant	P.
	Corn meal agar	P.	P.	greenish brown	abundant	P.
	Lima bean agar	P.	oil drops	gray to green	very abundant	P. dark
	Prune agar	P.	a.	green	abundant	a.
	Fermi agar	P.	P. oil drops	green	abundant	P.
Cooked Vegetables	Corn meal	P.	oil drops	green	sparse	P.
	Cocoanut	P.	oil drops	green	abundant	a.
	Rice	P.	oil drops	green	abundant	a.
	Spinach	a.	oil drops	light green	abundant	a.
	Banana	a.	oil drops	green	abundant	a.
	Bean pods	P.	few oil drops	greenish brown	very abundant	P.
Liquid Media	Raulin's sol.	P.	oil drops	dark green	abundant	P.
	Fermi sol.	P.	abundant oil drops	light green	abundant	a.
	Bean decoc-tion	P.	a.	light green	fairly abundant	P.
	Solution A	P.	a.	light green	fairly abundant	P.
	Solution B	P.	few oil drops	very dark	very dark	P.

p = present. a = absent.

4*

On Prune Agar. Prune agar was found to be one of the best media used. Maturity of growth is attained in about the same time as on corn meal agar, however the aerial mycelium is somewhat longer on this medium than on corn meal agar, and growth is more vigorous.

The spore formation and the characteristic green color, when seen in mass at first, is also essentially the same as on corn meal agar. The heavy-walled stroma forming cells noted on corn meal agar were not observed on prune agar. The mycelium is 3—4 microns in diameter. The spores are $4-6 \times 5-17$ microns in diameter and length respectively.

The growth of this fungus has been studied on a variety of other media representing several classes of nutrients. The most important and constant characteristics of the fungus on these various media have been condensed into tabulated form, and are given below. Some of these characters noted below vary with age and external conditions, but care has been exercised to maintain conditions as nearly uniform as possible during the time the cultures were growing.

Table II.
Growth and characters of spores of *Heterosporium variable* developed on various media.

	Medium	Number	Color	Shape	No. of cells in spores vary	Granules
Agar	Spinach agar	abundant	light green	mostly cylindrical	1—3	p.
	Corn meal agar	very abundant	olive green	oval and cylindrical	1—3	p.
	Lima bean agar	very abundant	olive green	oval and cylindrical	1—3	p.
	Fermi agar	fairly abundant	dark brown	ellipsoid and cylindrical	1—3	a.
	Prune agar	very abundant	brown	ellipsoid and cylindrical	1—2	a.
Cooked Vegetables	Corn meal	very abundant	green	oval cylindrical	1—3	oil drops
	Cocoanut	abundant	olive green	oval cylindrical	1—3	oil drops
	Rice	very abundant	olive green	oval cylindrical	1—3	not granular
	Spinach leaf	abundant	light green	mostly cylindrical	1—3	a.
	Banana	abundant	brown	mostly cylindrical	1—3	oil drops
	Bean pods	few	brown	mostly cylindrical	1—2	few oil drops
Liquid-media	Fermi solution	fairly abundant	dark green	oval to cylindrical	1—2	p.
	Bean decoction	very abundant	light green	oval to cylindrical	1—3	oil drops
	Solution A ¹	abundant	light green	oval to cylindrical	1—2	p.
	Solution B ¹	abundant	light green	oval to cylindrical	1—2	p.
	Raulin's sol.	abundant	deep green	cylindrical	2—3	few oil drops

¹) See page 50. p = present. a = absent.

This study of the mycelium produced on the various classes of nutrients shows that the distinguishing characteristics remain fairly constant. A glance at the table shows that with few exceptions the mycelium was very abundant.

for it soon covered the entire surface of the medium. As a rule, the surface of the medium was occupied by a mass of mycelium forming a black, hard stroma. Granules and oil drops were generally present, though in some cases we failed to observe them. As the table shows, dark brown, heavy walled mycelial cells were sometimes absent even when the stroma was present.

In much the same way the growth and variability of the spores upon different media were studied and compared. We have found that the longer the particular strain of *Heterosporium* has been grown in laboratory cultures, the more the spores tend toward the ovate, unicellular form. These tests were therefore made with the same strain of *Heterosporium* about 10 months after its isolation from the spinach plant. The results of the comparative studies are presented in the following table. (p. 52.)

An examination of the tabulated results of the growth of the fungus on the media used shows that the spores are generally produced in large quantities. The color of the spores as of the mycelium remains quite constant. Our study of the variability in the shape and number of cells of the spores indicates that the fungus was not inappropriately named *Heterosporium variabile*. The spores produced on each medium used varied from unicellular-oval to unicellular and multicellular-cylindrical. The unicellular spores are very abundant, the uniseptate not abundant, and the biseptate rare. Although the spores differ widely on each particular medium the limits of the variation are practically the same on all the media used. After the process of budding begins and the oval spores are formed the spores vary in length from 5 to 14 microns and in diameter from 3 to 5 microns. Oil drops or granules are usually present at some stage in the development of the spores, but as the table shows, there were three cases in which they were not observed.

The Formation of Spores by a Budding Process.

In describing this fungus, the majority of investigators have mentioned only one form of spore viz. — the 1 to 3 septate cylindrical spore¹).

A continued study of the fungus in artificial culture media eventually brings to light large numbers of unicellular oval spores as well as the typical pluricellular cylindrical spores. In the cultures, especially in those made in the hanging drop, it could be seen that these unicellular, oval spores were developed by a process of budding.

When *H. variabile* is first isolated from spinach leaves, it does not grow thriftily on nutrient agar until several months have passed. Although the spores on the spinach leaf are very numerous, it is unusual to find many colonies of *H. variabile* in making dilution cultures on Petri dishes. Where the fungus does develop, however, it resembles in all particulars the morphology of the original form on the spinach leaf, especially in regard to the morphology of the spores (number of septa, spininess, etc.).

After the fungus has been cultivated on artificial media for some time, however, it will be found that the pluriseptate spores are scarce and that the unicellular oval spores are being produced in large numbers by a budding process, frequently from the pluri-septate, cylindrical spores of the specific type. As the artificial cultivation of the fungus is continued it appears to

¹) Lindau, in Engler and Prantl's Nat.-Pflanzenfam. I. 1 Abt. p. 180, however, states that the spores of *H. variabile* are sometimes formed in short chains.

lose entirely the power to produce the typical spiny, pluriseptate, cylindrical form of spore, but produces in large numbers the smooth, oval, unicellular spores, both in solid and in liquid media.

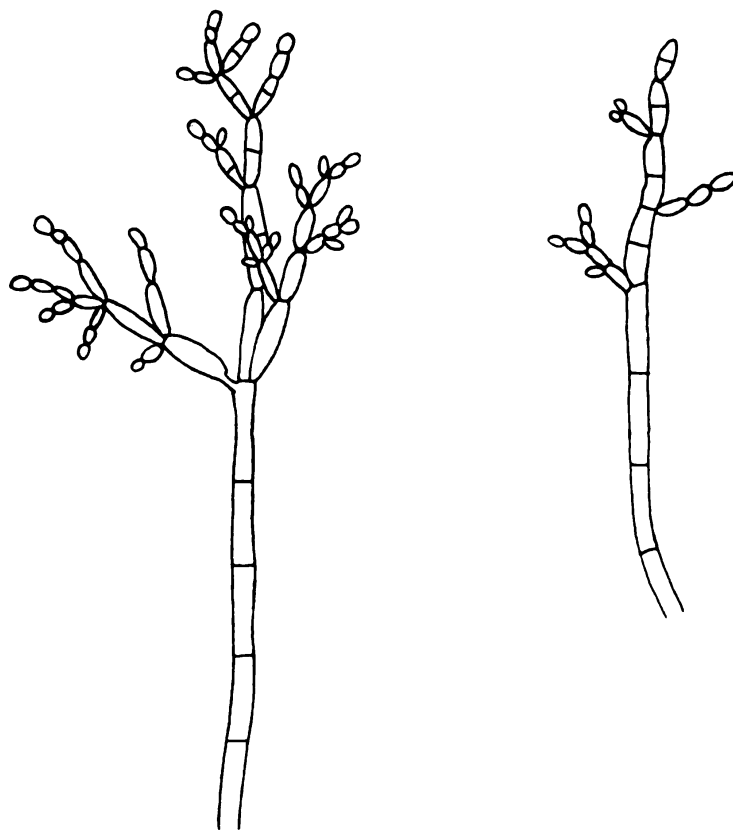


Fig. 7. Modified conidiophores of *H. variable* producing spores by the budding process. Drawn from a hanging drop culture.

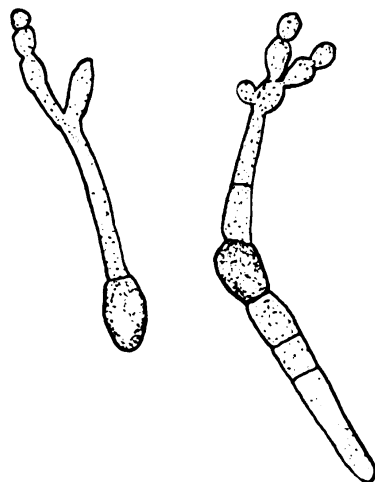


Fig. 8. Germinating *Heterosporium* spores whose germ tubes are beginning to form bud-spores. Drawn from a hanging drop culture in bean decoction.

Those bud-spores may be formed from the ends of ordinary hyphal branches, or on the ends of conidiophores, or even on other spores. The number of spores which may be budded off in this way at any given point varies from one to an indefinite number. Their arrangement also varies from a simple row of buds to a system of primary and secondary rows presenting a form not unlike that of a tree. (see fig. 7.) These chains of spores

may either be formed in the medium or they may be aerial and formed at right angles to the surface of the medium. When hanging drop cultures are used we observe a vertical branch put forth on which is formed a chain of bud spores. In favorable cases this chain gives rise to secondary and tertiary and lower ranks of chains all of which have a more or less distinctly arborescent form.

It not infrequently happens that a spore in germinating produces a very short germ tube which at once begins to produce spores by budding from aerial hyphae (fig. 8 and 9).

It may be said that when these bud spores were first found in our cultures that we felt suspicious of the purity thereof. Repeated separation of the fungi in colonies on Petri dishes gave nothing, however, but the original form. We then began anew with strains of the fungus isolated from leaves freshly

collected in the field, and brought several new strains of *H. variabile* into cultivation in the laboratory. In each case the same type of budding was developed in course of time. There remains therefore, no doubt, in our minds at least, of the purity of the cultures, nor of the general habit of budding in strains of *Heterosporium* which are long kept under cultivation.

The next problem investigated was the influence of factors which might throw some light upon the stimulus inducing budding, especially if the stimulus were one which had a cumulative action in artificial cultures.

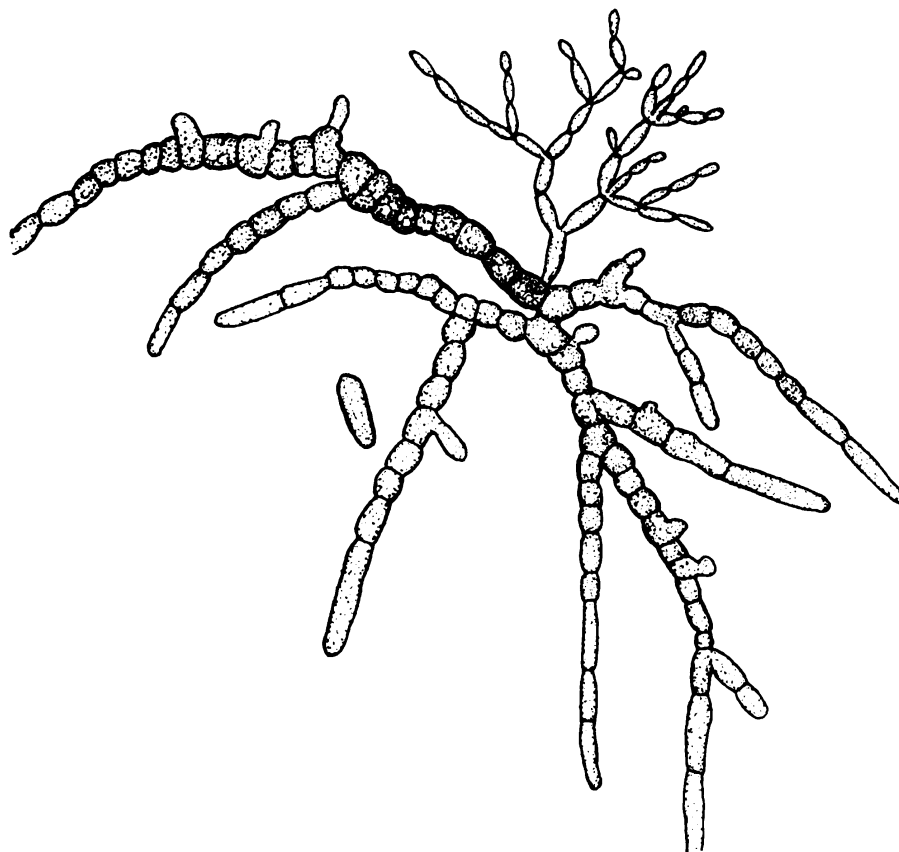


Fig. 9. A young *Heterosporium* mycelium which has produced a branch bearing bud spores. Drawn from a hanging drop culture in bean decoction.

The influence of Various Factors upon the Process of Budding.

Up to the present time we have not observed the formation of spores upon the host plant by the budding process. An effort was accordingly made to determine what factors induce the changed manner of spore formation found in our cultures. A brief account of these experiments follows.

The Nature and Composition of the Medium. The budding process was first noticed and always most abundant upon bean decoction. Cultures made simultaneously from the same source upon bean decoction, Fermi's solution, and Raulin's solution all produced mycelia upon which budding was abundant.

Acidity of the Solutions. Sterilized bean decoction was rendered neutral to phenolphthalein by the addition of NaOH. A portion then received a quantity of glacial acetic acid equal to one per cent of the total volume. Cultures were made in both the neutral and acid portions using inocula taken from the same culture. In both media the budding process occurred.

The experiment was repeated using Fermi's and Raulin's solution instead of bean decoction. While the growth of *Heterosporium* was more profuse on the neutral solution the budding process occurred in both, and apparently alike.

Oxygen Relations. A set of small Erlenmeyer flasks containing respectively bean decoction, Fermi's solution, and Raulin's solution were inoculated with *H. variable* and cultivated under anaerobic conditions. This was accomplished by placing them in a Novy culture jar and supplying an atmosphere of hydrogen. Control cultures were made in similar flasks under ordinary aerobic conditions. As was to be expected the cultures in an atmosphere of hydrogen made a rather feeble growth, undoubtedly they had, in the first of the experiment, a small amount of oxygen. Nevertheless, the mycelia grew and carried on the budding process under both aerobic and anaerobic conditions.

Dilute Solutions. For this study cultures were made on the synthetic solutions of Raulin and Fermi. For convenience of description we designate the full strength solution as „100 per cent“ and express the dilution correspondingly. The dilutions employed were 50 per cent, 25 per cent, 1 per cent, 0.5 per cent, 0.25 per cent and 0.125 per cent. 200 cc. Erlenmeyer flasks each containing 50 cc. of the various concentrations were sterilized and inoculated with *H. variable*. In the three lower concentrations the growth was very weak and it at first seemed that the spores were produced on conidiophores, i. e. by a non-budding process, but somewhat later the typical budding was observed. In these very weak solutions the fungus did not produce the usual mat which covers surface of the liquid, but only produced a few detached flecks.

On the Fermi's solution no growth was made on concentrations less than 0.5 per cent. Here also the normal budding process was preceded by a period during which spores were apparently formed on conidiophores.

To summarize the results of these experiments it may be said that the budding process, observed when certain strains of *H. variable* are grown upon bean decoction also occurs when it is grown upon other liquid media. The process does not appear to be influenced by the acidity of the solution, by the absence of oxygen, nor by the dilution of the medium.

At present, it seems that the only explanation possible for this budding process is that it is a response to some stimulus residing in the artificial media which were used. So far as the experiments go, it seems that the saprophytic mode of life is more responsible for the process than the nature of the nutrients or the reaction of the solution or other factors mentioned above.

VII. Summary.

1. The disease of spinach popularly known as „Rust“ which appears on the nearly mature plants is caused by the fungus *Heterosporium variable*, Cke.

2. From the investigations here reported it appears that *H. variabile* is a weak parasite and infects usually spinach plants which have been injured or weakened by other agents. *Peronospora effusa* Grev. which was found as a parasite in the same spinach fields earlier in the season appears to be a forerunner of the *Heterosporium* infection. Winter injury is another predisposing factor to the disease.

3. The fuscous mycelium was found growing intracellularly and disposed principally in the parietal layer of protoplasm. Geniculate conidiophores are developed from sori on the surface of the host plant. The pluri-cellular spiny spores find their typical development on the host plant. In artificial cultures where saprophytic conditions prevail the fungus produces after some time smooth, unicellular spores.

4. Close observation of the development of the *Heterosporium* fungus under a variety of physiological conditions demonstrated considerable variability in the form and habit of the fungus. The fungus when first isolated grows poorly as a saprophyte, but in course of time during which it undergoes changes of form and habit it grows luxuriantly as a saprophyte.

5. One of the most striking alterations in the development of the fungus is the process by which spores arise by budding either from hyphae or from one another. The budding process appears to be uninfluenced by the acidity of the solution, by the presence or absence of oxygen, or by the dilution of the medium, but rather to be due to the conditions imposed by the saprophytic mode of life in artificial cultures.

Explanation of figures.

Fig. 1. Spinach leaves infected with *Heterosporium variabile*. Collected March 18th.

Fig. 2. Spinach leaves infected with *Peronospora effusa*. The infected spots show the lighter colored, water soaked appearance.

Fig. 3. Microphotograph of a section of a spinach leaf showing the leaf cells invaded by the *Heterosporium* mycelium.

Fig. 4. The short thick-walled cells characteristic of the mycelium of the stroma. Taken from a culture on lima bean agar.

Fig. 4a. Fragment of mycelium showing the beginning of short, thick-walled cells taken from a culture on lima bean agar. Through the larger of these cells the strand of protoplasm of the hypha may be seen.

Fig. 5. Conidiophores and conidia of *H. variabile* grown on bean agar.

Fig. 6. A microphotograph of spores of *Heterosporium variabile*. The large spore near the centre is a typical spore.

Fig. 7. Aerial branches of a young mycelium showing the spore budding. Drawn from a hanging drop culture in bean decoction.

Fig. 8. One-celled *Heterosporium* spores which commenced budding almost immediately after germination. Taken from a hanging drop culture in bean decoction.

Fig. 9. A young mycelium which has formed an aerial branch and begun to form spores by budding.

Nachdruck verboten.

Toxic effects of "Alkali Salts" in soils on soil Bacteria.

I. Ammonification.

By Chas. B. Lipman, Berkeley, Cal., U. S. A., Agricultural Experiment Station.

With 1 Textfigures.

In a series of investigations¹⁾ carried out between 1908 and 1910, the writer has shown, among other things, the marked toxic effects of the chlorides of sodium, potassium, magnesium and calcium on the power of pure cultures of *Bacillus subtilis* in the ammonification of peptone in solution. I have also called attention, in the above mentioned papers, to the fact that a study of the effects of salts on the soil bacteria when correlated with those on the higher plants would be of the greatest value in investigations looking toward the reclamation and control of alkali soils in the arid regions. It was therefore thought best on the basis of facts gleaned from the investigations on salt effects on ammonification by pure cultures in solutions, to study the effects of the salts of the alkali soils, which usually consist of the sodium salts of hydrochloric, carbonic and sulphuric acids, on the natural ammonia producing flora of soils. To that end a light sandy soil, free from alkali, from a walnut grove in Southern California was selected for the experimental work. The soil while being a light sand, was fairly well supplied with humus owing to the careful system of green manuring which was practised on it, and contained a vigorous flora of ammonifying bacteria.

Experimental.

A series of glass tumblers, each containing 100 grams of the soil above described in air dry condition, was treated as follows. To each was added 2 grams of dried blood and varying amounts of the salts to be tested as indicated in the subjoined table. These were thoroughly mixed in the dry condition with a sterile spatula, 18 c. c. of sterile distilled water added and again thoroughly mixed. The tumblers were then covered with clean petri dish covers, placed in the incubator at a temperature varying from 26° C to 28° C and allowed to incubate for 4 days. After the expiration of that period the soils were transferred to copper distilling flasks to each of which were added 350 to 400 c. c. of distilled water and an excess of magnesium oxide. The ammonia was then distilled off and caught in standard N/10 hydrochloric acid and the excess of acid titrated against N/10 ammonia. Sterile controls as well as untreated soils were run so that the amount

¹⁾ See Bot. Gaz. Vol. 48. No. 2. p. 105; Vol. 49. No. 1. p. 41; Vol. 49. No. 3. p. 207.

of ammonia produced by the bacteria from the dried blood could be accurately determined. Duplicates were run on all cultures. The amounts of ammonia noted in the following tables represent averages of two soils treated alike in each case.

Series I.

Toxic Effects of NaCl.

Amounts of NaCl beginning with an amount equivalent to 0.2 per cent of NaCl in the soil and increased by 0.2 per cent in concentration in each succeeding tumbler, were added to the portions of soil prepared as described above leaving one portion of soil untreated. The concentration of NaCl in the last tumbler of the series was thus brought up to 2 per cent.

The results of the analyses at the end of the incubation period as above given follow with a toxicity curve based on the same.

Table I.
Concentration of salt given in percentages in soil.
Blood content in tumblers 2%.

No.	Concentration of NaCl	Mg. N as NH_3 Produced.
0	0	50.77
1	0.2	15.24
2	0.4	6.13
3	0.6	4.31
4	0.8	3.24
5	1.0	2.29
6	1.2	1.89
7	1.4	1.18
8	1.6	0.56
9	1.8	0.25
10	2.0	—

Examining the results in Table I and the curve in Fig. I based on those results we find that even at as low a concentration as 0.2 per cent, NaCl is strongly toxic for the bacteria responsible for ammonification in the soil used. At 0.4 per cent NaCl there is a decrease in the production of ammonia which is more than 50 per cent below that of the 0.2 per cent concentration. Beyond that point which amounts to almost a complete cessation of the activities of the ammonifying bacteria, the further large additions of salt are only slightly more toxic until at a concentration of 1.6 per cent NaCl there is but very little or no ammonia formed.

When we take into consideration the fact that a concentration of 0.2 per cent NaCl is very commonly found in our soils many of which frequently show a salt content far in excess of that amount, the results above given assume a practical significance which must be seriously taken into consideration in the study of our alkali problems.

Series II.

Toxic Effects of Na_2SO_4 .

The experiment was arranged here similarly to the one in the last series except that Na_2SO_4 was substituted for NaCl. The following table gives

the results of the ammonia determinations made after the incubation period as above.

Table II.
Concentration of salt given in percentages in soil.
Blood content in tumblers 2%.

No.	Concentration of Na_2SO_4	Mg. N as NH_3 Produced
0	0	50.77
1	0.2	27.83
2	0.4	23.28
3	0.6	12.60
4	0.8	8.97
5	1.0	5.60
6	1.2	4.42
7	1.4	2.77
8	1.6	2.56
9	1.8	1.79
10	2.0	0.67

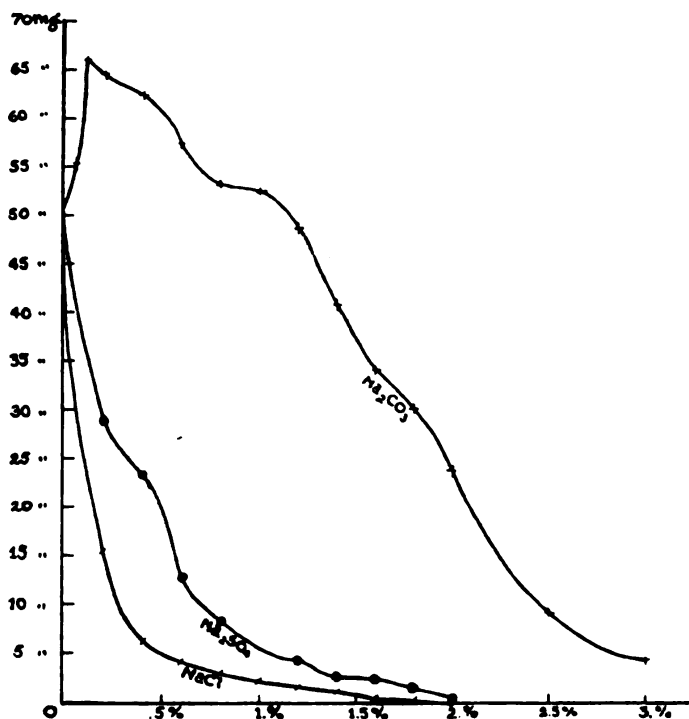


Fig. I. Curves showing the relative toxicities of NaCl , Na_2SO_4 and Na_2CO_3 . The numbers along the ordinate represent the amount of nitrogen as ammonia, in milligrams, produced in the various tumblers. The numbers along the abscissa represent the concentrations of the salts. The intermediate concentrations between those noted are given in the tables.

A study of Table II and the curve drawn for the toxicity of Na_2SO_4 in Fig. I, reveals the facts that Na_2SO_4 is not nearly as toxic as NaCl and that its toxicity for the mixed ammonifying flora of a soil manifests itself much more gradually as larger and larger amounts of the salt are employed.

It requires a concentration of 1 per cent Na_2SO_4 in the soil to exercise a toxic effect which is about equivalent to that of 0.4 per cent NaCl and the amount of ammonia produced where the Na_2SO_4 has a concentration of 0.4 per cent is not, as in the case of the NaCl series, more than 50 per cent lower than at the preceding concentration (0.2 per cent), but only about 15 per cent lower. The largest manifestation of toxicity in this series seems to occur in the concentration between 0.4 per cent and 0.6 per cent Na_2SO_4 where at the latter concentration there is a decrease of the amount of ammonia formed which is equal to about 45 per cent of the total amount produced at the former concentration. After the 0.6 per cent concentration, however, the toxicity manifests itself much more gradually. We are therefore justified in concluding that Na_2SO_4 is very much less toxic than NaCl for the mixed ammonifying flora in the soil and that much larger amounts of that salt will be necessary to inhibit the production of ammonia in the field to a similar extent as that to which it is inhibited by comparatively small amounts of NaCl . We are, on the other hand, confronted by the fact that the Na_2SO_4 is the most common of the three salts which are usually found in our alkali soils and that it is found as a rule in larger amounts in soils than the other salts. This salt may therefore offer from the point of view of ammonia production as serious a problem in alkali land reclamation as the other salts which are relatively far more toxic.

Series III.

Toxic Effects of Na_2CO_3 .

Owing to the stimulating effect which preliminary series of experiments had shown Na_2CO_3 to have on ammonification in soils this series was arranged slightly differently than the preceding. Much smaller intervals in increasing the salt content were employed in the lower concentrations so as to bring out more strikingly the stimulating effects of Na_2CO_3 and more cultures were prepared so as to allow for the use of larger concentrations of the carbonate than those used in the preceding series as indicated in the table. Otherwise the experiment was arranged in a similar manner to the preceding. The results obtained from the ammonia distillations following the requisite period of incubation follow.

An examination of the foregoing table and the curve based on the data therein given (See Fig. 1) bring out in a most striking manner the strong stimulating effect of Na_2CO_3 on the ammonifying flora of the soil employed. The greatest ammonification is probably reached normally at a concentration of Na_2CO_3 which lies somewhere between 0.1 per cent and 0.2 per cent of that salt since at times the largest amounts are obtained at 0.1 per cent and at others at 0.2 per cent Na_2CO_3 , beyond which point there is always a steady, though gradual, decrease as the concentration of the carbonate increases. We find here a behavior on the part of the ammonifying flora of a soil which is diametrically opposite to the behavior, under like conditions, of the higher plants. We are indeed dealing here with a salt which is exceedingly toxic even in very low concentrations to the higher plants, in addition to its very detrimental effects on the physical condition of the heavier soils, which not only becomes only slowly toxic to the ammonifying organisms but actually stimulates them to greater activity at considerable concentrations. Since the soil was alkaline to begin with there is further

no reason for believing that the Na_2CO_3 brought about the stimulation referred to by any change in the reaction of the soil from acid to alkaline. This striking effect of the Na_2CO_3 which only begins to be seriously toxic at a concentration of 1.4 per cent brings up many questions which are of the greatest scientific and practical interest. It may serve to explain the large accumulations of nitrates which have been reported in certain soils of this country¹), if the stimulation holds as truly for the nitrifying bacteria as it does for the organisms of ammonification. It may perhaps be intimately connected with a changed solubility, in its presence, of the zeolitic silicates in the soil thus rendering available larger amounts of plant food for the bacteria and hence enhancing their activities. Similarly it may also serve to explain the presence of large amounts of the mineral plant foods soluble in acid which are so commonly found associated with the so-called black alkali (sodium carbonate). Only at a concentration of 2 per cent Na_2CO_3 in the soil do we begin to see a marked falling off in the production of ammonia.

Table III.
Concentration of salt given in percentages in soil.
Blood content in tumblers 2%.

No.	Concentration of Na_2CO_3	Mg. N as NH_3 Produced
0	0	50.77
1	0.05	55.42
2	0.1	66.34
3	0.2	64.87
4	0.4	62.56
5	0.6	57.44
6	0.8	53.24
7	1.0	52.73
8	1.2	48.71
9	1.4	40.95
10	1.6	34.21
11	1.8	31.19
12	2.0	23.99
13	2.5	9.40
14	3.0	4.67

Discussion of results.

The results of the experiments above outlined bring out several important considerations with reference to the transformation of nitrogen in soils by bacteria and the relation of alkali salts thereto. They bring out also in a very striking manner the great differences in the behavior of the higher plants and the bacteria toward these alkali salts. We find, for example, that whereas it takes the presence of about 2 per cent of Na_2CO_3 in the soil to effect a marked falling off in its ammonia producing powers, that one twentieth of that amount has been found by Hilgard²) to make clay soils untillable or sufficient to prevent the growth of young alfalfa plants. On the other hand, we are also acquainted with the fact that alfalfa makes a very vigorous growth in the presence of relatively large amounts of NaCl

¹) See Headden Colorado Agricult. Exprim. Station Bull. No. 155.

²) Soils 1903.

while in the case of the ammonifying flora of soils NaCl becomes very toxic at as low a concentration as 0.2 per cent in the soil. In the case of Na_2SO_4 too, which is by far the most innocuous of the three salts for plants we find a marked toxicity for the agents of ammonification in soils though it becomes much more gradually toxic than the NaCl and only shows marked toxic effects at higher concentrations. Further in a series of experiments which remain as yet unpublished, the writer found that in peptone solutions, one species of ammonifying bacteria (*Bacillus subtilis*) was prevented from producing ammonia to any but a slight extent even when the Na_2CO_3 present was only 0.1 per cent in concentration, whereas, on the other hand, NaCl was much more gradually toxic in solution than in the soil. There is evidently a fundamental difference in the action of salts in soils and in solutions with respect to both plants and soil bacteria which, it must not be overlooked in this connection, must be carefully considered in plant physiological investigations. It would also appear from the results above given, that only small amounts of ammonia could be formed in soils containing considerable amounts of NaCl and Na_2SO_4 while large amounts of ammonia would be formed in soils containing large amounts of Na_2CO_3 and when we consider that soils containing comparatively large amounts of the three salts may show good nitrifying powers we are confronted by a possible antagonism between the salts which allows of such powers. Moreover the results in this paper incline the writer to change, or at least to modify, a view expressed in earlier papers in agreement with Loeb and Osterhout that the anion was of little consequence in the toxic action of salts. In these experiments it is obvious that the anion is a very powerful factor in the toxicity of the salt concerned.

In order to correlate the effects of salts on ammonification in soils with those on nitrification, and nitrogen fixation, experiments are now being carried out looking towards such a consummation, the results of which will be reserved for other papers. It is also planned to follow these with experiments on the antagonisms which may exist between the alkali salts in soils and their relations to the bacterial activities therein.

Conclusions.

1. Ammonification in soils is inhibited by the presence of various amounts of each of the "alkali salts" NaCl, Na_2SO_4 , Na_2CO_3 .

2. The first is the most toxic, the second much less so, the last only slightly toxic except at very high concentrations.

3. The actual points at which these salts become markedly toxic towards ammonification in soils are between 0.1 per cent and 0.2 per cent for NaCl, 0.4 per cent for Na_2SO_4 and 2 per cent for Na_2CO_3 .

4. These salt effects are very different from those noted on plants by the alkali salts mentioned. In fact the conditions are about reversed.

5. These facts will have an important bearing in the consideration of plans for reclaiming alkali land.

I desire to acknowledge herewith my great indebtedness to Mr. J. A. Mc Keen to whose assistance, in the analytical work concerned in these investigations, a great deal of the value of the work is due; also to Mr. J. B. Neff, of Anaheim, California, who was good enough to send me the soil used in these investigations.

Soils Research Laboratory, University of California.

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

van Dam, W., Über die Konsistenz der Käsemasse bei Edamerkäsen, p. 7.

Francé, R. H., Studien über edaphische Organismen, p. 1.

Lipman, Chas. B., Toxic effects of "Alkali

Salts" in soils on soil Bacteria. I. Ammonification, p. 58.

Reed, Howard S., and Cooley, J. S., Heterosporium variabile Cke., its relation to Spinacia oleracea and environmental factors, p. 40.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 24. November 1911.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 32. No. 3/5.

Ausgegeben am 20. Dezember 1911.

Nachdruck verboten.

Die Hauptphasen der Milchsäuregärung und ihre praktische Bedeutung.

Von Max Grimm,

Leiter der agronomischen Abteilung am chemisch-bakteriologischen Institut
Dr. Blumenthal in Moskau.

Bereits im Jahre 1902 publizierte ich im Jahresbericht des landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratoriums zu St. Petersburg meine Untersuchungen über den Verlauf der Milchsäuregärung in Reinkulturen. Die Anzahl der damals ausgeführten Versuche war nicht groß, doch ließ sich trotzdem stets eine gewisse Erscheinung beobachten, auf Grund derer ich es für möglich hielt, den Gärungsprozeß in mehrere scharf abgegrenzte Phasen zu zerlegen. Ich benannte die erste Phase *Anpassungsphase*, die zweite bezeichnete ich als Phase der *steigenden Lebenstätigkeit*, ihr folgt die Phase der *abnehmenden Lebenstätigkeit*, die in die letzte Phase des *Ausbleibens* weiterer Säurebildung übergeht.

Bereits 1884 machte Prof. Soxhlet die Beobachtung, daß der Säurungsprozeß der Milch erst nach einer gewissen Incubationsperiode beginnt, deren Dauer in Abhängigkeit von den Temperaturverhältnissen steht¹⁾.

Dasselbe wurde später von C. Plaut bestätigt und durch folgende Tabelle ergänzt²⁾:

Temperatur, bei welcher die Milch aufbewahrt wurde °C	Dauer der Incu- bation Stunden	Gerinnt beim Kochen nach Stunden	Gerinnt freiwillig nach Stunden
10	48—72	96	100
15	20—24	51	63
20	12—20	27	48
25	8	—	24
31	ca. 7	8	22
37	5	8	12

In den Jahren 1908—1909 wiederholte ich im chemisch-bakteriologischen Laboratorium Dr. Blumenthal in Moskau die Gärungsversuche in größerem Maßstabe und unter anderen Bedingungen, und erlaube mir, an dieser Stelle das Resultat derselben der Öffentlichkeit zu übergeben. Zu meinen Versuchen zog ich einige Rassen des *Leichmannschen* Milchsäurebakteriums (*Bact. lactis acidii*) heran, die von mir aus spontan gesäuerter Milch, sowie aus der sauren Milch der Firma *Blandow* in Moskau isoliert worden waren. Die erste Versuchsreihe trug einen orientirenden Charakter. Es sollte vor allem festgestellt werden, wann die Anpassungs-

¹⁾ Soxhlet, Bericht üb. d. außerord. Wandervers. bayr. Landwirte. München 1884.

²⁾ Plaut, C., Arch. f. Hyg. Bd. 13. p. 233.

phase ihr Ende findet, d. h. wann die Säurebildung beginnt, und zweitens, wann dieser Prozeß zum Stillstande kommt. Die zweite Versuchsreihe sollte genauere Daten über den Verlauf der Säurebildung geben.

Je nach der Anzahl der notwendigen Säurebestimmungen wurden große Reagenzröhrchen mit sterilisierter Milch auf folgende Weise mit *Bact. lactis acidii* geimpft: Ein Kubikzentimeter einer 24stündigen Reinkultur wurde mit 100 ccm sterilisiertem Wasser gemischt und gründlich durchgeschüttelt und sodann je 0,1 ccm in die entsprechende Anzahl Reagenzröhrchen geimpft. Auf diese Weise konnte eine gleichmäßige Verteilung der Milchsäurebakterien in den einzelnen Röhrchen erreicht werden und entsprach die Menge des Impfmateri als etwa derjenigen einer Platinöse.

Erste Versuchsreihe.

Wie meine früheren Erfahrungen es gelehrt hatten, mußte zur Feststellung der Dauer der Anpassungsphase auf die ersten 6—8 Stunden das Hauptaugenmerk gerichtet werden. Anfangs wurden die Säurebestimmungen alle 2 Stunden gemacht, also gleich nach Impfung und dann 2, 4, 6 u. 8 Stunden später. In folgender Tabelle sind einige dieser Bestimmungen wiedergegeben:

Stunden nach Impfung	Säuregrade							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	15	14	15	16	16	14	16	15
2	15	14	15	16	16	14	16	15
4	15	14	15	16	16	14	16	15
6	16	15	17	18	17	16	19	18
8	18	17	20	22	20	18	24	22

Übereinstimmend zeigten sämtliche Bestimmungen, daß die Milch im Verlauf von 4 Stunden ohne jegliche Veränderung bleibt. Zwischen der 4. und 6. Stunde findet die erste Phase ihren Abschluß, und um die Umschlagszeit genauer festzustellen, wurden öfters Säurebestimmungen (alle $\frac{1}{2}$ St.) in diesem Zeitintervall unternommen, von denen einige in der nächsten Tabelle wiedergegeben sein mögen:

Stunden nach Impfung	Säuregrade				
0	15	14	16	14	15
4	15	14	16	14	15
4 $\frac{1}{2}$	15	14	16	14	15
5	15	15	16	15	17
5 $\frac{1}{2}$	16	15	17	16	19
6	16	17	19	18	22

Aus vorliegenden Berechnungen ist zu ersehen, daß unter den gegebenen Bedingungen der Umschlagspunkt zwischen der 4. und 5. Stunde liegt, was ungefähr den Beobachtungen C. Plauts (siehe oben) entspricht. Hier also beginnt die zweite Phase der Milchsäuregärung, die Phase der steigenden Lebenstätigkeit.

Um den Schlußmoment der Säurebildung zu fixieren, wurden dieselben Säurebestimmungen nach Verlauf von 30 Stunden nach der Impfung vorgenommen, gleichfalls in Zwischenräumen von 2 Stunden. Einige Bestimmungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Zeit nach Impfung	Säuregrade					
0	15	14	14	15	16	14
30	83	81	84	86	88	79
32	85	84	86	87	90	83
34	86	88	89	91	91	90
36	86	88	89	91	91	90

Übereinstimmend zeigen sämtliche Zahlen, daß die 4. Phase zwischen der 32. und 34. Stunde nach Impfung eintritt. Es war nun daran gelegen, festzustellen, ob der Eintritt dieser Phase Hand in Hand mit der Einstellung weiterer Vermehrung der Milchsäurebakterien geht, und zu diesem Zweck wurden einige quantitative Analysen gemacht, die den Beweis lieferten, daß immerhin eine weitere Vermehrung der Milchsäurebakterien stattfindet, obwohl die Säurebildung nicht mehr vor sich geht:

Reinkultur 34 Stunden alt in 1 ccm	10 370 800
dieselbe Kultur nach 24 Stunden in 1 ccm	12 650 000
dieselbe Kultur nach 48 Stunden in 1 ccm	14 100 000
Reinkultur 34 Stunden alt in 1 ccm	7 890 500
dieselbe Kultur nach 24 Stunden in 1 ccm	9 400 000
dieselbe Kultur nach 5 Tagen in 1 ccm	10 250 000

Wir sehen also, daß eine weitere Teilung der Milchsäurebakterien unzweifelhaft stattfindet; wie lange dieser Prozeß andauert wurde nicht festgestellt, wohl aber die Zeit des vollständigen Todes der Reinkulturen unter dem Einfluß der Milchsäure und anderer Stoffwechselprodukte der Bakterien.

Alter der Kultur Tage	Resultat weiterer Impfung											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+	—
22	+	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—
23	+	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—
24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	Negatives Resultat											
26												
27												

Aus der Tabelle ist zu sehen, daß der Tod der Kultur bei 35° C spätestens am 24. Tage nach der Impfung, meist bereits am 21. Tage eintritt.

Dieses Resultat stimmt mit meinen früheren Untersuchungen überein (vergl. Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. II, Bd. 8, 1902, p. 584), und gibt die Möglichkeit, auf leichte Weise in Reagenzröhrchen steriles Kasein als Nährboden zur Untersuchung von peptonisierenden Mikroorganismen herzustellen. Zu diesem Zweck impft man mit Milch gefüllte Reagenzröhrchen mit *B. lactis acidus* und stellt selbige in den Thermostaten unter eine Glasglocke, wo sich zugleich ein kleines Gefäß mit Wasser befinden muß, um die Milch nicht eintrocknen zu lassen. Nach Verlauf von 3 Wochen hat man festes, steriles Kasein bereit.

Nachdem die beiden äußeren Phasen der Milchsäuregärung festgestellt waren, war es interessant, den Gang der Milchsäuregärung innerhalb dieser

beiden Phasen genauer zu präzisieren, und das sollte die zweite Versuchsreihe tun, zu der wir nun übergehen.

Zweite Versuchsreihe.

Feststellung und Präzision der 2. und 3. Phase der Milchsäuregärung.

Bei der Säurebestimmung konnten bei der zweiten Versuchsreihe die ersten $4\frac{1}{2}$ Stunden nach der Impfung, sowie die Zeit nach 32 Stunden unbeobachtet bleiben. Titriert wurde alle 3 Stunden, im ganzen 11—12 Mal.

Beistehende Tabelle gibt die Resultate einiger Versuche:

Stunden nach Impfung	Säuregrade						
4	15	16	15	14	15	15	14
7	22	24	23	21	22	21	20
10	35	36	34	32	34	33	34
13	51	50	48	49	52	51	50
16	70	68	64	71	76	78	74
19	80	77	73	80	84	84	79
22	85	86	79	84	88	89	83
25	90	91	85	87	91	93	88
28	94	97	89	89	93	97	90
31	97	101	93	96	95	100	93
34	97	101	93	96	95	98	94
37	—	—	—	96	94	100	—

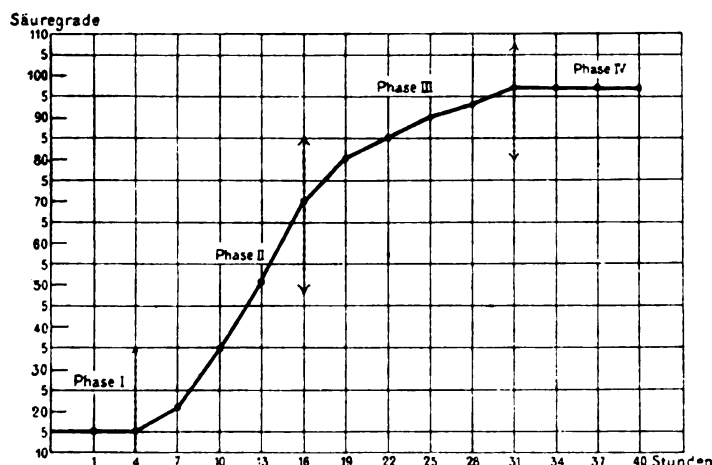
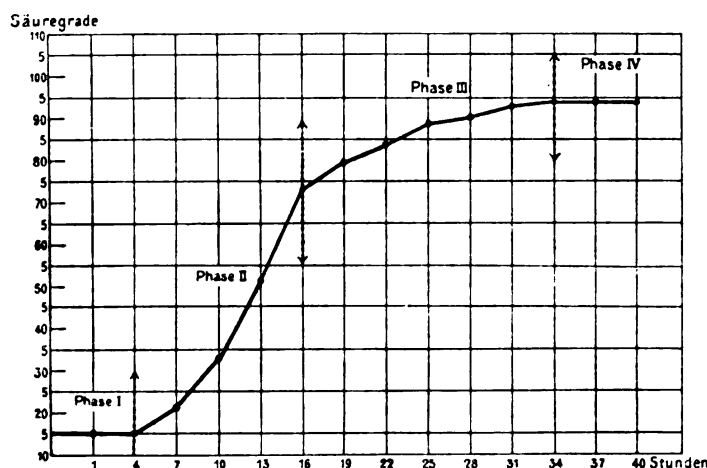
Wie wir aus den obigen Zahlen sehen, tritt der Umschlagspunkt 16 Stunden nach der Impfung ein, die Zeit der steigenden Lebenstätigkeit der Milchsäurebakterien dauert somit gegen 12 Stunden, von der 5. Stunde nach der Impfung bis etwa zur 16. Stunde. Diese Periode im Leben der Milchsäurebakterien ist die physiologisch interessanteste, und ich stellte es mir zur Aufgabe, eine Virulenzsteigerung der gegebenen Rasse durch Umimpfen derselben im Verlaufe dieser zweiten Phase herbeizuführen. Leider ist mir dies nur zum Teil gelungen, doch haben sich bei dieser Gelegenheit einige Beobachtungen machen lassen, die meiner Meinung nach nicht ohne praktischen Wert sind. Die zweite Phase der Milchsäuregärung ist nämlich die günstigste für die Erhaltung bestimmter Rassen in ihren physiologischen Eigenschaften. Will man eine aromatische Milchsäurebakterien-Rasse in ihrer vollen Kraft am Leben erhalten, so impfe man sie nicht nach der 16. Stunde ihres Alters in eine neue Milch um. Überhaupt sollten Milchsäurebakterien, die praktischen Zwecken zu dienen haben, nicht länger als 16 Stunden in Thermostaten gehalten werden. Ein weiteres Aushalten derselben im Eisschranke beeinträchtigt nicht den Charakter der nächsten Kulturen. Die 3. Phase der Milchsäuregärung ruft eine Schwächung der Säurebildner hervor, und impft man solche Kulturen einige Male um, so kommt es nicht mehr zu einer normalen Kaseinfällung, da sich in mehr oder weniger großen Mengen Milchserum einstellt und das Kasein eine weiche Konsistenz annimmt. Schwache Kaseinfällung und Bildung von Serum sind die Zeichen der sich einstellenden Schwäche der Milchsäurebildner.

Um ein bleibendes Bild der 4 Hauptphasen der künstlichen Milchsäuregärung zu geben, wollen wir zwei unserer Säurebestimmungen als Kurven wiedergeben.

Unsere Untersuchungen zusammenfassend, kommen wir zu folgenden Schlüssen:

1. Die Milchsäuregärung in Reinkulturen vermittels des *Bact. lactis acidi* weist in ihrem normalen Verlaufe 4 streng abgegrenzte Phasen auf.

2. Die erste Phase der Milchsäuregärung, die Anpassungsphase, findet etwa $4\frac{1}{2}$ Stunden nach Impfung der Reinkultur ihren Abschluß. Im Laufe dieser ersten Stunden geht eine starke Vermehrung der Bakterien vor sich, mit Ausfall der Säurebildung.



3. Die zweite Phase beginnt $4\frac{1}{2}$ Stunden nach der Impfung und hat eine Dauer von etwa 12 Stunden. Sie ist durch von Stunde zu Stunde zunehmende Lebenstätigkeit der Milchsäurebakterien charakterisiert, die etwa um die 14. Stunde ihren Höhepunkt erreicht. Dies ist die Phase der steigenden Lebenstätigkeit der Milchsäurebakterien.

4. Die dritte Phase ist durch ein ständiges Fallen des Säurebildungsvermögens gekennzeichnet und

beginnt 16 Stunden nach der Impfung, um nach der 32. Stunde der letzten Phase Platz zu machen.

5. Etwa 32 Stunden nach der Impfung beginnt bei 35° C das Greisenalter der Bakterien, die nun die Fähigkeit, weiter Säure zu bilden, vollkommen einbüßen, obwohl eine weitere Vermehrung der einzelnen Keime stattfindet.

b. Die Phase der steigenden Lebenstätigkeit hat insofern praktisches Interesse, als es diejenige Zeit ist, in der die Reinkulturen zwecks Erhaltung ihrer physiologischen Fähigkeiten umgeimpft werden müssen.

Nachdruck verboten.

Bacteria of frozen Soil. II.

By H. J. Conn, Ithaca, N. Y., U. S. A.

Mit 7 Kurven.

In this periodical in 1910¹⁾ there appeared an article by the author with a title the same as this. This earlier article called attention to a phenomenal increase in bacteria in frozen soil observed at the Cornell Experiment Station during the winter 1909—1910. At this time no explanation of the fact was offered, although it was remarked that it might possibly be due to the existence of a winter flora largely distinct from that flourishing in summer. At the present moment quantitative results for the winter of 1910—11 are at hand, and the qualitative data for both years have been arranged; the quantitative work confirms perfectly the results of the previous year, while the qualitative data furnish evidence that the explanation already suggested is probably correct. Hence this second article is written.

The work carried on during this investigation has been of five different sorts. 1) Quantitative work on the field plats mentioned in the previous article has been continued for two years, showing good agreement between the two winters' results. 2) Quantitative determinations have also been made in soil allowed to freeze in a small pot. 3) The colonies on the plates have been classified into three easily distinguished groups, and the numbers of each group counted; this has shown that the percentage of each group varies with the season. 4) Cultures, systematically isolated from the various samples of field soil, during the second year, both summer and winter, have been studied and compared with those isolated during the previous year; this qualitative study has shown that to a great extent the winter bacteria are different from those of summer. 5) Certain bacteria which seem to occur numerously in winter soil have been kept in pure culture under artificial conditions at low temperatures, showing that at least a slight growth is possible even below the freezing point of water.

Methods.

The methods continued during the second year have been largely the same as those published in the previous article. Soil has almost always been

¹⁾ Conn, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. p. 422.

taken from the field by means of an auger, although during the winter of 1909—10 no satisfactory means of using an auger was found, and the samples were obtained with a pick, and were therefore less representative than those taken during the warm weather or in the following winter. The depth of sampling has been 15 to 18 centimeters. After thorough mixing the soil has been diluted in sterile water and enumerations of the bacteria made by means of the plate method, using such dilutions that the material added to the gelatin in the plates has been equivalent to $1/20,000$, $1/100,000$, and $1/200,000$ gm., and on some occasions as little as $1/500,000$ gm. of soil. The medium used throughout almost all of the work has been of the constituency:

Gelatin	12 %
Soil extract	20 %
Dextrose	0.1 %
Reaction adjusted to 0.5 % normal acid to phenolphthalein.	

The soil extract for this medium has been obtained by heating soil for an hour at one atmosphere pressure, then mixing with twice its weight of water, letting it stand over night cold, boiling for half an hour, and filtering; it has finally been diluted, if necessary, to contain 0.12 to 0.14 % total solids.

Incubation has been at a temperature of 19 to 20° C. Plates were kept seven days before counting. Results were based usually on the dilution of $1/100,000$ or on that of $1/200,000$.

These quantitative methods, it will be seen, are scarcely different from those published in the previous article; it is chiefly in regard to the qualitative methods that there is anything to add to what has already been published. The qualitative work has consisted briefly of isolating from the plates as many different kinds of bacteria as could be thus obtained, growing on ordinary culture media under aerobic conditions, and of studying these forms with the intention of classifying them and noticing any differences between the summer and winter organisms. The classification has been carried on by the system of the Society of American Bacteriologists, which lays most stress upon the biochemical differences between the organisms, paying less attention to the size and shape of spores and rods. Following this method, the forms studied have been classified into several more or less distinct types; but as yet no attempt has been made to recognize in any of these types actual species, as it has seemed wiser, in a field where so few organisms have been described, to do nothing more than point out the predominating groups. A more detailed account of this classification is to be published later; the methods will then be more fully described.

Possibility of Error.

Much space in the previous article was devoted to a consideration of the possibility of error in the quantitative determinations. It was then concluded that the chances of error were slight, and the confirmation of the earlier results by the second winter's work reduces them still more; but to make things even more certain, a few points have been investigated which were acknowledged, when the other article was published, to be possible sources of error. The only source of error not practically eliminated then was the possibility of multiplication of the bacteria during the time required for thawing and plating the samples; but besides this it was not then quite proved that no error could have resulted from variations in the temperature

of the incubator. At present these two possibilities of error are almost eliminated.

That no serious error could have resulted from a multiplication of the bacteria in the soil after reaching the laboratory has been quite conclusively shown by the second winter's work, as a method of sampling was used which rendered it unnecessary to wait a long time for the soil to thaw. On Feb. 8, 1911, for example, when the bacteria in Plat 1B reached the height of twenty eight millions, the soil was taken from the field by means of an auger in such a manner that only very small pieces were obtained which could be rapidly thawed; only ten or fifteen minutes were needed that day to melt the soil water, a time no longer than many of the summer samples have been kept. The thawing has been equally rapid in the case of all the other winter samples this year, the whole process of thawing, diluting and plating never requiring more than an hour from the time when the sample reached the laboratory. The result of the rapidity in thawing these samples has been to remove all chance of error from this source.

The error which might have resulted from variations in the temperature was nearly eliminated in the previous work by the fact that very few colonies developed after the eighth day, even in the case of samples which showed small numbers of bacteria when held for the usual length of time. Even stronger proof of this fact has been obtained this year from the results of the January determinations. In January, as will be explained later, Plat 4 B became completely thawed, and the numbers of bacteria dropped the difference in the numbers of bacteria in the two plats was well brought out by the plates, although they were both kept at exactly the same conditions. In such a case it is evidently impossible to say that the high numbers of Plat 1B could have been due to a difference in temperature. A more exact control, moreover, has been kept this year on the temperature of the incubator, and it is quite certain that it could not have varied more than one degree centigrade.

It will be seen that the possibility of error has thus been almost entirely eliminated.

Description of Soil and its Treatment.

The field plats sampled in the course of the second year of these investigations were the same as those studied the previous year. These two plats are each about one meter wide and about one and a half meters long, and one is about 6.5 meters west of the other. The soil is described by the U. S. Department of Agriculture, Bureau of Soils, as Dunkirk Clay Loam; it is not one of extremely high organic content, yet it is by no means deficient in humic constituents. Natural drainage is poor in the soil, but this field is underdrained, and one of the drains passes not far from these plats.

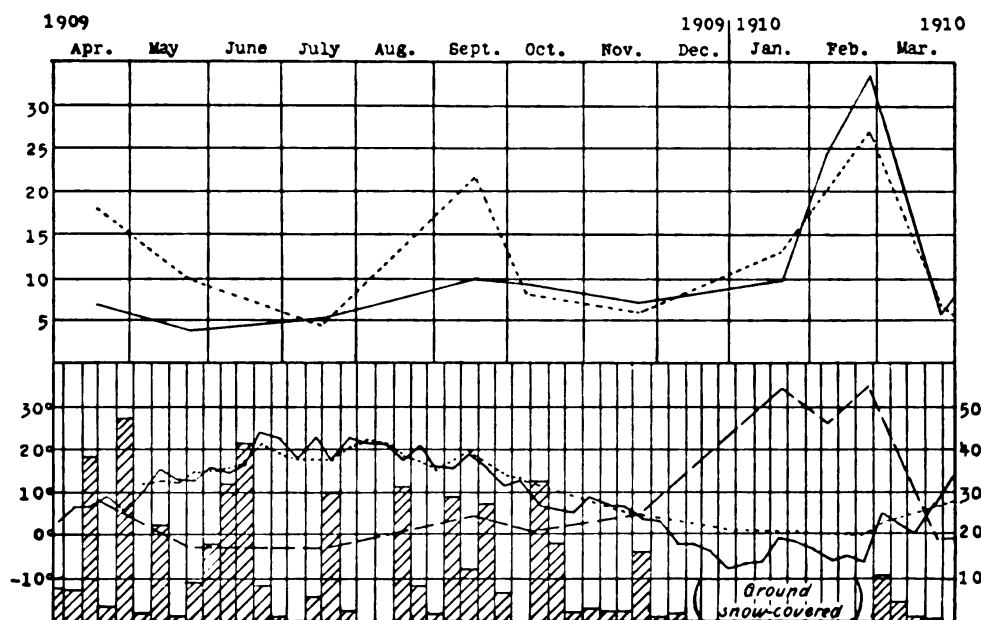
Two spots in each plat, one at the center, the other about 30 cm from the North end, were selected for sampling and carefully marked; the samples taken from any one of these four spots could not have varied more than 20 cm from the same point. The center of each plat was sampled almost wholly during the first year, the end during the second. The soil of these two plats is very uniform as to texture, but that of the more easterly plat, denoted as Plat 1B, is of a considerably more dense structure. This slight difference in structure seems to be associated with some difference in productivity, as Plat 1B produces noticeably poorer crops than Plat 4B. Of these two plats, 1B is slightly more elevated than 4B, and there is a gradual

sloping of the ground beyond Plat 4B for some distance further in the same direction.¹⁾

Throughout this experiment the soil was cropped continuously with millet; this same crop, moreover, had been planted on the soil in the year preceding this bacteriological investigation. The soil was unfertilized, having received no manure or fertilizer for at least three years before the sampling was begun; it had, moreover, received no ploughing during the period of sampling, nor for one year previous, but was disc-harrowed before seeding to millet in 1909, and in both May and July, 1910.

Weather.

The weather conditions throughout the course of this experiment have been tabulated and are given at the end of this article (Tables VI and VII); the tables show the average atmospheric temperature per week during the



Curve I.

Quantitative Results, 1909—10.

Compared with Weather Conditions during the Year.

Upper curves: -

Bacteria in millions per gram dry soil;
 — in Plat 4B,
 in Plat 1B.

Lower curves:

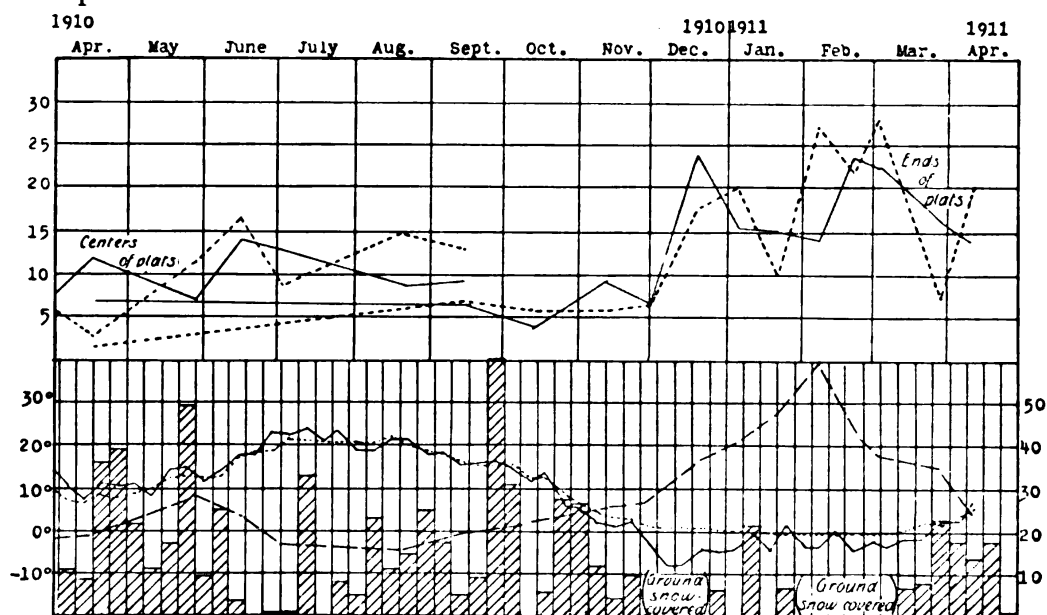
— — Moisture of soil samples, in per cent.
 — Atmospheric temperature (Centigrade); average per week.
 Soil temperature (Centigrade); average per week.

Shaded columns represent the rainfall per week in millimeters.

whole period, the average soil temperature throughout all the time except for parts of the fall and winter in 1909—10, the amount of rain per week,

¹⁾ A series of articles relating to the properties, crop-producing power, and bacterial flora of these two soil plats will soon be published by the Cornell (N. Y.) Experiment Station under the names of T. L. Lyon, J. A. Bizzell, H. J. Conn and J. H. Squires.

with the days of greatest rainfall, and the moisture content of the soil at the times of sampling. For the time while the ground was snow-covered, snowfall is not given and only those rains are shown which were sufficient to melt most of the snow, and the thaws are recorded instead of the days of precipitation, as the actual date of snowfall is of little importance for an understanding of the soil conditions. The atmospheric temperature and rainfall are based on the data of the U. S. Weather Bureau, Ithaca Station; the soil temperature is obtained by a comparison of the records of a thermograph set up at a distant part of the field with daily readings of thermometers placed at the exact points sampled. To make this more graphic, the same data are plotted in Curves I and II.



Curve II.

Quantitative Results, 1910-11.

Compared with Weather Conditions during the Year.

Upper curves:

Bacteria in millions per gram dry soil;

— in Plat 4B.

- - - - in Plat 1B.

Short curves represent samples from centers, long curves those from ends of plats.

Lower curves:

— — Moisture of soil samples, in per cent.

— — Atmospheric temperature (Centigrade); average per week.

- - - - Soil temperature (Centigrade); average per week.

Shaded columns represent the rainfall per week in centimeters.

The weather conditions during the year 1909-10 were summed up in a paragraph of the previous article which may well be quoted here:

"On April 17, 1909, (the date of the first samples) the soil had not yet dried out from winter. The spring was very late and the weather still quite cold. By May 25, the soil was fairly dry; at this date it had just been harrowed in order to plant the millet, but not to a depth as great as that to which the sample was taken. The sample on July 26, was taken after four weeks of extremely dry weather; a slight storm the preceding day, however, had brought the moisture content up to 16 per cent. With the second week in

September the drought was broken; the sample on September 16, was taken about a week after the rains had begun. The moisture content, however, would not have been as high as 25 per cent except that it had been raining for a few hours before the sample was taken. In October the weather was much the same but somewhat colder. In November the weather was so cold that the soil was partly frozen about the 15th; the sample on the 23rd, however, followed two days of moderate rain which had completely thawed the soil. January and February were very cold months without any thaw sufficient to melt all the snow; from the middle of December, indeed, till the first of March the ground was continually snow-covered. On January 21, 1910, the soil was frozen only to a depth of perhaps 8 cm, so that the sample included both frozen and unfrozen soil; the samples in February, however, were taken from soil frozen to their entire depth. With the first of March a sudden change in the weather occurred, the snow disappearing in little over a week. Drainage went on during the first two weeks with extreme rapidity, and by March 25, the soil was fairly dry, about 20 per cent moisture. The conditions at the time of this sample were more advanced than at the time of the April sample in 1909. The rest of March 1910 and the first two weeks of April were weeks of very warm dry weather for that time of year; in spite of this weather the moisture content of Plat 4B was higher on April 15, than on March 25, while that of Plat 1B was not greatly lower."

The spring of 1910 was quite unusual; after the exceptionally warm and dry weather of March, the temperature remained nearly constant till into June, while immediately after the April sample was taken rains commenced. The rainfall for the next two months was somewhat above normal, although by no means as much above as it had been below normal in March; it was during this wet spell that the May sample was taken, and just at its close that the soil was sampled in June. There was almost no rain from this date till July 2, when the next samples were taken; meanwhile the weather had been extremely hot. Slight rains and quite hot weather continued during July and slightly cooler weather in August. September continued about the same, except that it was cooler; the moisture content of the sample on the 14th would have been lower but for a slight rain on the 13th. Heavier rains now commenced, so that the moisture on October 12, was as high as that of the September sample altho the last rain had been on the 7th. With the first of November the temperature dropped considerably; this month was as exceptionally cold and stormy as March had been warm and clear. Snow or rain fell almost every day of November; at the date of sampling (the 12th) there was snow on the ground which had fallen the preceding day, but the ground was soft beneath it. At the next sampling (Nov. 30), the soil was still unfrozen, but the ground was covered with snow which had begun in the form of rain two days before and, on the day preceding, was melting nearly as fast as it fell. A few days later the soil began to freeze, and was frozen to a depth of five to eight centimeters on the 19th when it was next sampled. Very cold weather followed this, till the 28th, when two rainy days occurred which melted part of the snow; then after two more very cold days a thaw set in which lasted intermittently throughout January and part of February. On January 2nd the ground was nearly bare; at this date Plat 4B had melted completely, while Plat 1B, protected by a thin layer of ice on its surface, remained partly frozen. The next day was cold and snowy; when the samples of January 4 were taken, there was considerable

snow on the ground and the soil was frozen about three or four centimeters deep. During the rest of the month the ground remained bare most of the time, and the soil was at no time stiffly frozen, although after January 2, neither plat became completely thawed. February, unlike January, was exceptionally snowy, although this month also was warm. The first snowfall of February occurred after a few cold days so that the ground had become frozen and then, protected by the snow, remained frozen throughout the month in spite of a few rather severe thaws. Both samples of this month were taken from soil that was quite stiffly frozen. March was really a colder month than February and the soil taken on March 3, was frozen nearly as hard as that on February 22, . During the middle of the month there were several partial thaws; but not until a little before the sample of March 29, did the soil become entirely free from frost. During the cool rainy weather of the latter part of this month the soil did not dry out quickly; and on April 12, when the last samples were taken, although spring conditions had fairly begun, the season was not as far advanced as it has been at the time of the March sample in 1910.

Quantitative Results.

Field Experiment. The quantitative results for the two years are listed in Table I, and are shown graphically in Curves I to III. Curve I is essentially the same as that published in the earlier article; a comparison of this with Curve II will show the agreement between the two years work. In Curve III the moisture content of each plat separately is compared with the numbers of bacteria throughout the course of the experiment.

Comparing Curve II with Curve I, and the second half of Curve III with the first half, it will be seen that there is a general agreement between the two years' results, although the differences in detail are so great that they cannot be overlooked. It will be seen that during both years the highest counts were made in winter, although in the second winter the increase was not as regular or striking as in the first. It is further noticeable that Plat 4B, which reached the higher numbers in 1909—10 did not go as high as Plat 1B in 1910—11; Plat 1B, moreover, although it gave one count the second winter as high as any for that plat the first year, did not at any time reach such high numbers as had the other plat in 1909—10. Briefly, then, it seems that the second year as well as the first, showed an increase in the numbers of bacteria during the winter, but this increase took place with much less regularity.

This irregularity seems at least partially explained when we compare the weather conditions of the two winters. In 1909—10 the coldest weather was in February and the ground was continually snow covered throughout the winter months; in 1910—11 the coldest weather was in December and from the last of that month till February, the ground was almost bare, and often partly thawed. A mere glance at Curve II will be enough to show that the decrease during the winter of 1910—11 occurred during the warm weather of January and that the increases took place in December and February while the ground was frozen and snow-covered just as it had been throughout the preceding winter. The fact, moreover, that Plat 4B, the higher the first year, gave a lower count the second corresponds similarly with the fact that both plats were continually frozen in 1909—10, but in 1910—11 Plat 4B was usually the softer and at one time (January 2, 1911) was completely

thawed. A comparison, then, of the two years' results seems to show that the numbers of bacteria may increase rapidly in soil while it is well frozen. but decrease as it thaws.

Table I.

Date	Bacteria per gram dry soil, in			
	Plat 4B		Plat 1B	
	Center	North end	Center	North end
Apr. 17, 1909	7,000,000		18,000,000	
May 25, 1909	3,300,000		10,000,000	
July 16, 1909	5,000,000		4,500,000	
Sept. 16, 1909	10,000,000		22,000,000 ¹⁾	
Oct. 8, 1909	9,200,000		8,000,000	
Nov. 23, 1909	6,800,000		5,750,000	
Jan. 21, 1910	10,000,000		13,000,000	
Feb. 7, 1910	23,500,000			
Feb. 26, 1910	33,000,000		27,000,000	
Mar. 25, 1910	5,700,000		6,700,000	
Apr. 15, 1910	12,000,000	7,000,000	2,500,000	2,000,000
May 28, 1910	7,000,000		12,000,000	
June 15, 1910	14,000,000		16,500,000	
July 2, 1910	13,000,000		9,000,000	
Aug. 20, 1910	8,500,000		15,000,000	
Sept. 14, 1910	9,500,000	7,000,000	13,000,000	7,000,000
Oct. 12, 1910		4,000,000		6,000,000
Nov. 12, 1910		9,500,000		5,900,000
Nov. 30, 1910		7,000,000		7,000,000
Dec. 19, 1910		23,000,000		17,500,000
Jan. 4, 1911		15,500,000		20,000,000
Jan. 21, 1911		15,000,000		10,000,000
Feb. 6, 1911		14,000,000 ²⁾		27,000,000
Feb. 22, 1911		23,000,000		21,000,000
Mar. 3, 1911		22,000,000		28,000,000
Mar. 29, 1911		16,000,000 ²⁾		7,500,000
Apr. 12, 1911		14,000,000		20,000,000

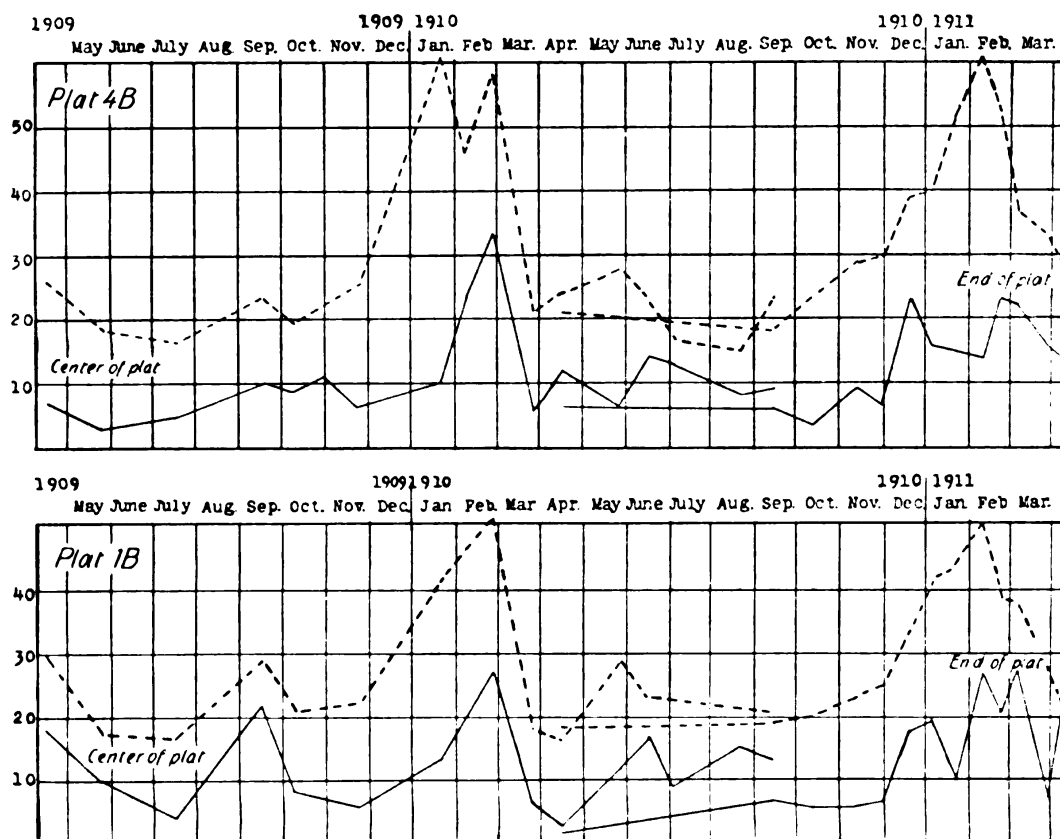
A little more light is thrown on these results when we compare the numbers of bacteria with the moisture content. Glancing at Curve III, it will be seen that during the first twenty months their agreement is so close as to suggest that it is the increase in moisture, rather than the cold weather, which causes the high numbers of bacteria. The possibility, indeed, was mentioned in the earlier article that the rise in numbers of bacteria might not be an actual multiplication but rather an increase due merely to the ascent of water from lower depths when the soil freezes. The results during the last four months make this explanation untenable. It is very plain, indeed, that during the winter of 1910—11 the moisture content and germ content are parallel only in December; in January the bacteria decrease while the moisture content continues to rise, while in February a decrease of the latter is accompanied by an increase of the former. Apparently, then, the increase in bacteria during the winter is caused by something associated with the freezing of the soil rather than with the soil moisture.

The possibility, indeed, that during the freezing some mechanical force

¹⁾ This count is probably too high, as little but surface soil was taken for the sample.

²⁾ These counts are somewhat doubtful, because of the extremely rapid liquefaction of the plates.

causes the organisms from lower depths to rise to the surface, and that at the time of melting the bacteria are again carried downward by drainage seems now to be improbable. There are two facts which make this explanation seem untenable: in the first place, as will be shown later, the increase during the winter lay wholly in one group of the bacteria, and it is improbable that mechanical forces could exert such a discriminating action; and in the second place increases and decreases occurred in January 1911 according as the surface soil froze and thawed, although at no time did it thaw sufficiently to allow drainage to take place. These two facts, however, do not prove anything, and in the hope of obtaining such proof, an experiment was carried on in 1911 with soil frozen in a small pot.



Curve III.

Quantitative Results for the Two Years.

Compared with Moisture Content of the Individual Samples.

— Bacteria in millions per gram dry soil.

--- Moisture content of the soil samples.

(Curves beginning in April 1909 represent samples from centers, those beginning in April 1910 represent samples from ends of plats.)

Pot Experiment. A glance at Table II will be enough to show that the results of the pot experiment did not agree with those obtained from the field work; for there was a gradual, but constant, increase in numbers throughout the course of the experiment except during the week following the first freezing of the soil. It is generally recognized, however, that pot conditions are very different from those of the field, and in this case

there were several other ways in which conditions did not run parallel in the two experiments: during the first few weeks it was hoped that the weather would be cold enough to freeze the soil if the pot was merely set out of doors, but warm days were so frequent that this small bulk of soil was melted much more often than that in the field. When, finally, artificial means of freezing were employed, the soil was frozen much harder than field soil has ever been found here. This experiment, then, is inconclusive, as the conditions were unlike those of the field. They do show, however, that an actual increase is possible in frozen soil, even in a small pot where a rise of bacteria from lower depths is impossible.

Table II, Summary of Freezing Experiment.

Date	Total count per gram	Rapid Liquefiers		Actinomyces		Slow growers		Remarks
		per gram	%	per gram	%	per gram	%	
Jan. 4	5 000 000	400 000	8	1 200 000	24	3 000 000	66	Soil standing indoors, moisture content 8.1%
Jan. 11	10 000 000	900 000	9	2 200 000	22	7 000 000	70	Soil indoors; moisture
Jan. 16	12 000 000	925 000	8	1 800 000	15	9 000 000	76	40% since Jan. 4.
Jan. 25	7 800 000	800 000	10	1 300 000	16.5	5 800 000	74	Soil frozen since Jan. 16, except on Jan. 21.
Feb. 11	10 700 000	1 000 000	9.5	2 200 000	20	7 500 000	70	Soil thawed Jan. 16—28; frozen since Jan. 29.
Mar. 20	16 000 000	850 000	5.3	3 600 000	22.5	12 000 000	74	Frozen artificially since thaw on Feb. 20.
Mar. 27	19 000 000	700 000	3.7	3 300 000	17	15 000 000	78	Still frozen, but not very stiff since Mar. 22.
Apr. 4	21 000 000	1 000 000	4.8	4 000 000	19	16 000 000	76	Soil thawed since Mar. 27; kept indoors.
Apr. 11	19 000 000	2 200 000	6	1 200 000	11	16 500 000	82	Still thawed; moisture 40%.

A possible Explanation.

Looking again at Curve III, it will be seen that the parallelism between germ-content and moisture is so close at all times except in the winter of 1910—11 as to suggest that there is an intimate relation between the two; but if the moisture changes are the cause of most of the fluctuations in numbers it is evident that we must find some other explanation for those times when the two are not parallel. A study of the curve will show that these points usually occur at the periods of greatest increase or greatest decrease in numbers of bacteria (e. g. in July and November, 1909, February and November 1910 and in January and February, 1911). This suggests that there is another factor in play besides the moisture content, which at times acts with the moisture and at others in opposition to it. Temperature at once suggests itself as a possibility for the other factor; but it is evident that if temperature and moisture both had a direct effect on the numbers of bacteria we would not find them acting together in winter as well as in late summer, but in opposition during spring and late fall. The only way to explain the results as dependent on these two factors is to assume that there is a different group of bacteria predominating in winter from that which has the ascendancy in summer, and that the effect of temperature on the two groups is the opposite.

A little thought will show how well this assumption explains the facts. During the summer the temperature is favorable for the group which then predominates and the numbers may therefore increase more rapidly than does the moisture content; in the fall the temperature becomes unfavorable for this group and the numbers decrease in spite of the rising moisture content, until finally the other group begins to take the ascendancy; in cold winter weather again the temperature is favorable for the predominating group and once more the numbers can increase even though the moisture falls; but finally when the weather becomes warmer, either in spring or in mid-winter thaws, the numbers must drop more rapidly than the moisture content, because the warm weather is unfavorable to the winter organisms and the other group has not yet had time to take the ascendancy.

To establish this explanation we must show that there is actually a seasonal variation in the kinds of bacteria; and to show this we must turn to the qualitative results.

Relative Numbers of Actinomycetes, Rapid Liquefiers and Slow Growers.

In all cases the colonies on the plates, before the isolation of any cultures, were classified into three groups: Actinomycetes, rapid liquefiers and slow growers. The rapid liquefiers were easily distinguished, and were put in one group whether they produced spores or not. The Actinomycetes were more difficult to distinguish, although the large colonies or those which produced brown pigment could always be made out with no trouble; the smaller, non-chromogenic colonies had to be counted by means of a microscope. As slow growers were classed all the forms which produced punctiform colonies not showing, under the microscope, the radiate structure characteristic of Actinomycetes.

This classification of the colonies is essentially the same as that employed by Hiltner and Störmer in their work on the treatment of soil with CS_2 ¹⁾, although they named the groups which they recognized: liquefiers, non-liquefiers, and Streptothrix. Their Streptothrix group, of course, is the same as that to which is given here the name Actinomycetes preferred by recent writers. Their group of non-liquefiers, moreover, could not have been much different from that of the slow growers recognized in this article; for, although most of the slow growers studied here have proved to be liquefiers, their liquefaction is so slow that it can rarely be detected on the original plates even by the careful methods employed by Hiltner and Störmer. Their third group, therefore, must correspond very nearly to the rapid liquefiers recognized here. The results of this classification must then be comparable with those of the similar study carried on by the two earlier investigators.

Table III gives both the relative and absolute numbers of these three groups throughout the period of sampling. Curves IV and V show the same data in graphic form. The rapid liquefiers, it will be seen, are fairly constant in both plats, but reach their highest percentage during one of the warmer months (October 1909 and April 1910), with the exception of winter in 1911, when they increased in percent in Plat 4B immediately after that plat had been thawed by the warm weather; while the slow growers reach their highest

¹⁾ Hiltner und Störmer, Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 3. 1903. p. 445.

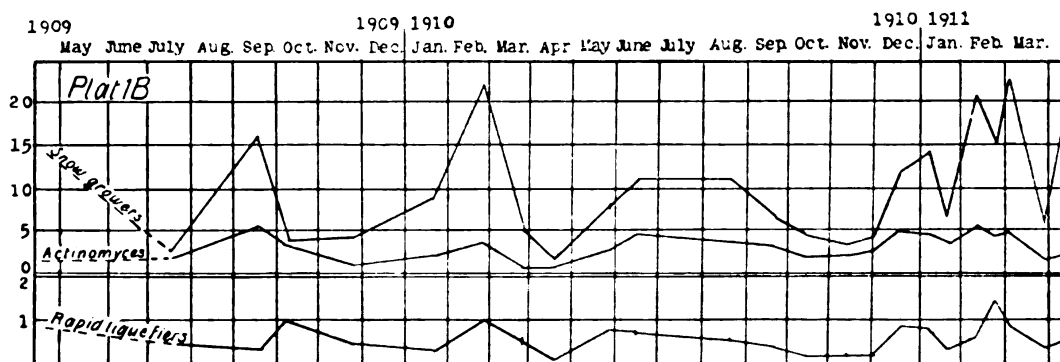
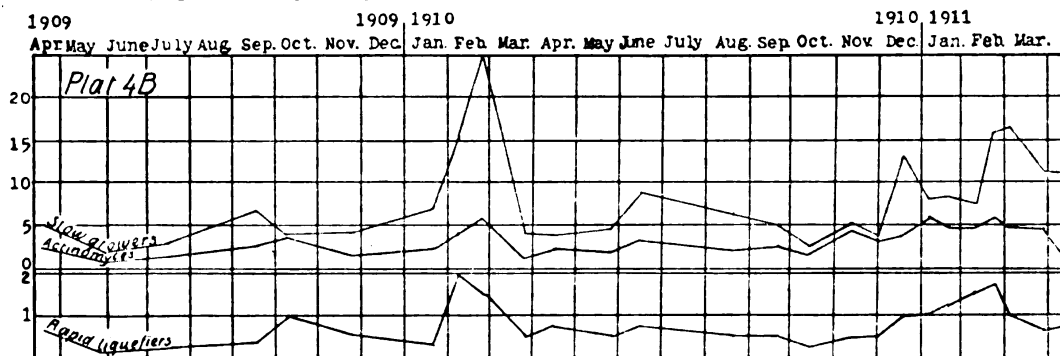
Table III. Showing Numbers and Percentage of the Rapid Liquefiers, Actinomycetes and Slow Growers.

Date	Plat 4B, (Good)				Plat 1B (Poor)							
	Rapid Liquefiers		Actinomycetes		Slow Growers		Rapid Liquefiers		Actinomycetes		Slow Growers	
	Per gram	%	Per gram	%	Per gram	%	Per gram	%	Per gram	%	Per gram	%
1909												
Apr. 17,	700,000	12	900,000	14	5,000,000	74	900,000	5	900,000?	5?	16,000,000	90?
May 25,	150,000	6	800,000	25	2,000,000	65	2,000,000	20?	500,000?	5?	7,000,000	75
July 16,	250,000	5	1,500,000	30	3,000,000	60	500,000	10	1,600,000	35	2,500,000	55
Sept. 16,	400,000	5	2,700,000	28	6,500,000	65	350,000	2	5,200,000	25	16,000,000	73
Oct. 8,	1,000,000	12	3,800,000	43	4,000,000	45	1,000,000	12	3,500,000	44	3,500,000	44
Nov. 23,	600,000	10	1,500,000	25	4,000,000	65	450,000	10	900,000	20	4,000,000	70
1910												
Jan. 21,	300,000	3	2,200,000	22	7,000,000	70	300,000	3	2,000,000	16	9,000,000	80
Feb. 7,	2,000,000	9	4,000,000	17	16,000,000	74	1,000,000	4	3,500,000	12	22,000,000	84
Feb. 26,	1,500,000	5	6,000,000	18	25,000,000	78	500,000	8	800,000	12	5,000,000	80
Mar. 25,	500,000	10	1,200,000	20	4,000,000	70	450,000	18	850,000	34	1,200,000	48
Apr. {mid.	1,000,000	8.3	3,000,000	25	8,000,000	67	450,000	9	500,000	35	1,300,000	65
15, {end.	750,000	10	2,300,000	33	4,000,000	57	160,000	6.7	2,500,000	21	8,500,000	71
May 28,	500,000	7	2,000,000	27.5	4,500,000	64.5	800,000	4.5	4,500,000	27.5	11,000,000	67
June 15,	750,000	6.5	3,500,000	26	9,000,000	66	750,000	4	3,500,000	23	11,000,000	73
Aug. 20,	500,000	6	2,000,000	24	6,000,000	70	600,000	3.5	3,500,000	30	8,500,000	65
Sept. {mid.	700,000	7.5	2,500,000	27	6,000,000	63	450,000	5	2,800,000	40	4,000,000	56
21, {end.	450,000	6	2,700,000	38	4,000,000	57	360,000	3	1,850,000	28.5	4,400,000	68
Oct. 12,	250,000	6.5	1,500,000	37.6	2,200,000	55	200,000	3.3	2,300,000	39.5	3,500,000	58
Nov. 12,	500,000	5	4,300,000	44	5,000,000	52	200,000	2.8	2,500,000	36	4,200,000	60
Nov. 30,	500,000	7	3,000,000	43	3,500,000	50	200,000	5	5,000,000	28	12,000,000	67
Dec. 19,	1,000,000	4.5	7,500,000	35	13,000,000	60	900,000	4.3	4,600,000	23	14,000,000	72.5
1911												
Jan. 4,	1,000,000	6.7	6,000,000	40	8,000,000	53	850,000	3.8	3,200,000	32	6,500,000	65
Jan. 21,	1,200,000	8	5,000,000	33	8,500,000	57	380,000	2.4	5,500,000	20	21,000,000	78
Feb. 8,	1,500,000	11	4,800,000	35	7,500,000	54	650,000	6.5	4,700,000	22.5	15,000,000	71
Feb. 22,	1,700,000	7.5	8,500,000	23.5	16,000,000	70	1,400,000	3	4,800,000	17	22,000,000	80
Mar. 3,	1,000,000	4.5	4,800,000	21.5	16,500,000	74	850,000	5.3	1,600,000	21.5	5,500,000	73
Mar. 29,	700,000	4.2	4,800,000	29	11,000,000	67	400,000	3	1,800,000	9	18,000,000	90
Apr. 12,	750,000	5.7	2,100,000	15	11,000,000	80	600,000	3	1,800,000			

6

percentage in winter, the Actinomycetes in the autumn. It will be noticed that the actual numbers of all three groups increase in winter. The fact that each of these three groups has its maximum at about the same time each year is of some significance; indeed it points strongly to a seasonal variation of the types of bacteria.

Another significant fact to be noticed in these curves is the behavior of the bacteria during the January thaw in 1911. It will be seen that the curve denoting the numbers of slow growers (in Curve IV) does not increase regularly as during the preceding winter, but falls in January and does not reach any great height again till February; this decrease is more pronounced



Curve IV.

Numbers of Rapid Liquefiers, Actinomycetes, and Slow Growers.

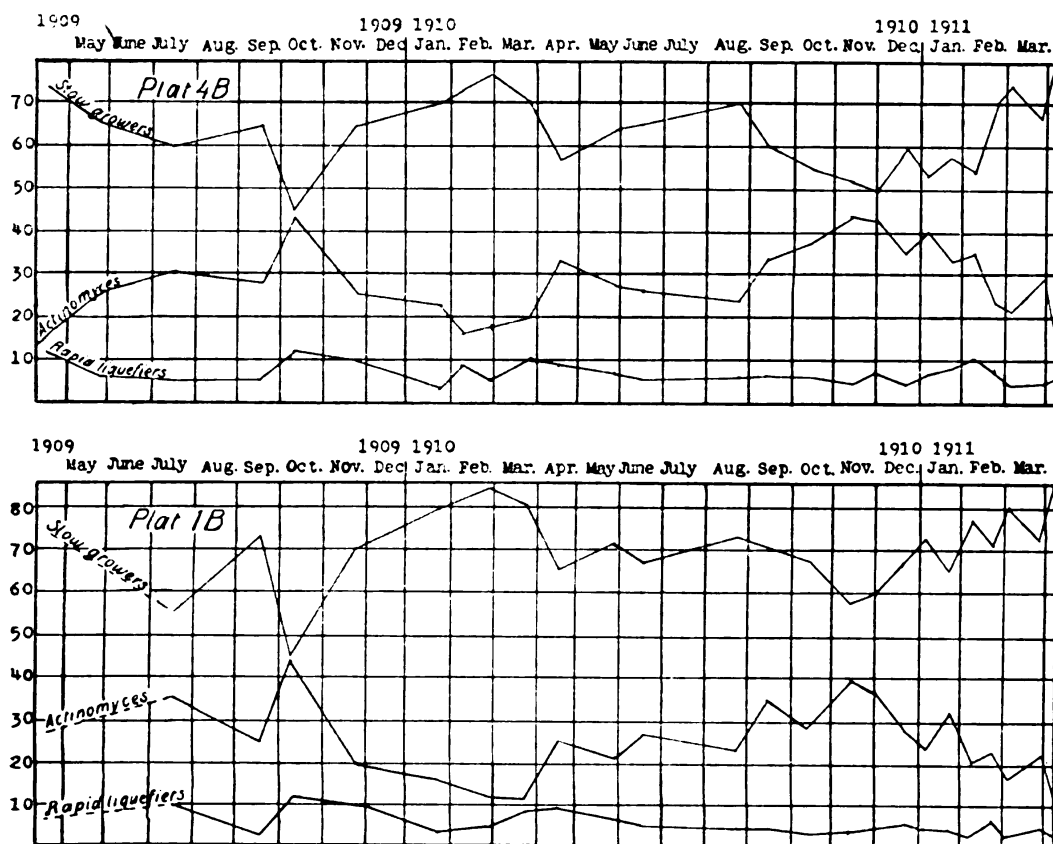
All curves indicate millions per gram dry soil; (rapid liquefiers are plotted on a scale five times as great as others).

Results for the first two samples of Plat 1B were uncertain; hence the dotted lines.

and takes place more quickly in Plat 4B which was completely thawed, than in Plat 1B. It will be further noticed that the other two groups seem to be less affected by the thaw than the slow growers; in fact the decrease in total numbers during January lies almost wholly in that one group. This fact makes it seem probable that it is the weather which determines which of the groups takes the ascendancy.

Briefly, then, this study of relative numbers of the three groups points towards a seasonal variation, exactly what seems to be necessary to explain the quantitative results. Of these three groups the slow growers require very little organic matter; the Actinomycetes, however, seem to like considerable organic matter if the physical conditions of the medium are adapted to their growth, although they do not flourish in liquid organic media; while

the rapid liquefiers in general prefer much organic matter, although the majority of the types isolated from winter soil grow rather poorly in the usual highly organic laboratory media. It seems, then, that the bacteria typical of winter soil are ones that do not require much organic matter or that even grow better when it is almost absent. If this is true, it gives considerable probability to the explanation already suggested; in order to determine its truth it has been necessary to make a careful study of various pure cultures isolated from the soil at various times throughout the period of investigation.



Curve V.

Relative Numbers of Rapid Liquefiers, Actinomyces, and Slow Growers.

Curves indicate the per cent of each group occurring in the various samples.

Results for the first two samples of plat 1B were uncertain; hence the dotted lines.

Study of Pure Cultures.

Occurrence of the Types. To investigate more thoroughly this matter of seasonal variation about five hundred cultures have been isolated and studied by the methods of the American Society, as already stated. They have been classified into some thirty-five types, a few of which correspond to species described by others, but most of which have not been successfully identified with anything previously described. Two facts, indeed, have made it difficult to make any such identification: many of the species elsewhere described, have been given such incomplete descriptions that identification is impossible; while many of the types mentioned here are

6*

distinguished by so few positive features that an attempt to compare them with previous species or to assign to them specific names of their own would be little short of foolish. Hence the types are merely given numbers, and a brief classification of these types is given here in order to show what kind of organisms are referred to in the table. A more detailed description of these types is to appear shortly in a publication of the Cornell (N. Y.) Experiment Station; it is also hoped, after this study has been continued a year or two more, to publish a more complete classification of the various soil bacteria isolated and studied in the course of the work.

Table IV. Seasonal Distribution of the Types.

Type No.	1909						1910												1911			
	Apr. 17	May 25	July 16	Sept. 16	Oct. 8	Nov. 23	Jan. 21	Feb. 26	Mar. 25	Apr. 15	May 28	June 15	Aug. 20	Sept. 14	Oct. 12	Nov. 12	Nov. 30	Dec. 19	Jan. 4	Jan. 21	Feb. 6	Mar. 3
1	+	+	△	△	+	△	△	+	△	△	△	△	△	△	△	△	△	tr	△	△	△	△
28	△	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△	+	△	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	?					tr	+	+	+	+	+	+	+	+	tr	+	+	+	△	+	+	+
7	+		tr				+	tr	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	?	+	+	+
16				+	+	+	+	+	tr	tr	+	+	tr	tr		+	tr	+	?	+	+	tr
2b									+		△	?	+	+	+			+	?			+
2a	+	+	△	△	?	?				+	△	+	△	+				+		+		
31	tr											tr										tr?
32		tr	+																			
36			tr	+								tr			tr							
25			+		tr	tr	+	+	+	+					tr					tr		
29				tr	tr		+			+				tr	tr	tr				tr		+
27				+	tr	tr		+		+				tr	tr					tr		
18				+	+	+												+	tr	tr		
20														tr			tr					+
34														tr								
12														tr	+				+			
15					+																	
17					+									+								
3					+	tr			+													
10					tr					tr		?										
38					tr					tr												
21	+				tr		+	tr		+					tr							
37															tr							
33		tr	tr												tr					+		
22						tr			tr						tr?	tr				tr		
19																+					tr	
9		tr															tr					
26		+					tr			?												
4									tr										?	tr	+	+
35								+														
11								+	tr	tr												
5	tr	tr						tr														

+ indicates present in considerable numbers; tr in mere traces; △ probably present in considerable numbers, but none isolated.

Table IV shows the occurrence of these types at the various times of the year and a brief classification of them is given in Table V. It will be seen that no attempt is made to state the frequency of the different organisms,

beyond indicating whether any one of them was present in considerable numbers, or in mere traces; but the information given is very interesting. The types are arranged in the order of their first appearance in the fall either year, so as to indicate their tendency toward seasonal variation. A few of the types, the first eight in Table IV, occur more or less throughout the year, while the others appear only for shorter periods. These latter types, it will be noticed, show a striking tendency to appear in the fall, persist through the winter, and then to disappear in the spring; in other words the flora of summer is the simplest, while that of the colder months is of greater complexity, owing to the occurrence then of various types which are not to be found in summer. This seasonal variation is perhaps even more striking from an actual study of the plates themselves, than from inspection of the table; so different has been their appearance at the different times of year that it is possible, after a little experience with this particular soil, to determine from a mere study of the plates whether the flora be that of winter, spring or fall.

Table V. Brief Classification of the Types.

- Types 1—9 Spore bearing bacteria.
- Types 1—8 Rapid liquefying.
 - Types 1—4 Facultative anaerobic; reducing nitrates.
 - Type 1 *B. mycoides*.
 - Type 2 *B. subtilis* (subtype a producing acid from glycerin, subtype b not producing acid from glycerin).
 - Type 3 showing pink chromogenesis on potato and in gelatin stab.
- Types 5—9 Strictly aerobic.
 - Type 5 Flagella many.
 - Types 6 & 7 Flagella few but not polar (near *Bact. floccosum*, Chester).
 - Type 6 Producing indol and acidifying most sugars.
 - Type 7 Not producing indol or acid (except sometimes from dextrose).
- Type 9 Non-liquefying.
- Types 10—19 Non spore bearing, rapid liquefying, with polar flagella.
 - Types 10—16 Reducing nitrates.
 - Types 10—12 Non-chromogenic.
 - Type 10 with a single flagellum.
 - Types 11 & 12 with 2—6 flagella.
 - Type 11 under 0.5 micron; type 12 over 0.5 micron.
 - Type 15 Reddish-brown chromogenic.
 - Type 16 Yellow to orange chromogenic.
 - Type 17 Nitrate reduction doubtful, non-chromogenic. Flagella 2—3.
 - Types 18 & 19 Nitrates not reduced. Flagella 2—6.
 - Type 18 *B. fluorescens*.
 - Type 19 Non-fluorescent; coloring milk green, with pungent odor.
- Types 20—29 Non spore bearing; slowly liquefying; producing punctiform colonies in gelatin.
 - Type 20 With polar flagella.
 - Types 21—29 without flagella.
 - Types 21 & 22 reducing nitrates to nitrites.
 - Type 21 Non-chromogenic; Type 22 Yellow chromogenic.
 - Type 25 Producing ammonia from nitrates with no signs of nitrites.
 - Types 26—29 Not reducing nitrates.
 - Types 26—28 Non-chromogenic.
 - Type 26 Rods large, often over one micron.
 - Types 27 & 28 Rods small, often under 0.5 micron.
 - Type 27 producing indol; Type 28 not producing indol.
 - Type 29 Yellow chromogenic.
- Types 31—38 Non-liquefying.
 - Types 31—34 With polar flagella.
 - Types 31 & 32 Reducing nitrates.
 - Type 31 Producing acid from dextrose.

- Type 32 Producing no acid from dextrose.
- Types 33 & 34 not reducing nitrates.
- Type 33 with rods over 0.5 micron.
- Types 34 with rods under 0.5 micron.
- Types 35—38 Without flagella.
- Type 35 Orange chromogenic.
- Types 36—37 Non-chromogenic.
- Types 36 & 37 With rods under 0.5 micron.
- Type 36 Producing acid from dextrose.
- Type 37 Producing no acid from dextrose.
- Type 38 A Micrococcus over 0.5 micron.
- Types 40 & 45 Actinomycetes.
- Type 40 Act. flavus type, producing leathery growth on agar.
- Type 45 Act. albus type, producing growth on agar with white powdery surface.

It seems, then, that there is a striking tendency toward seasonal variation; although some organisms are present throughout the year, and others occur at isolated times without reappearing, there is, never the less, a marked difference between the bacteria of winter and those of summer. This point becomes of great interest when we recall the results of the study showing the relative numbers of Actinomycetes, rapid liquefiers, and slow growers. The study of the numbers of these three groups has shown that it is those organisms requiring little organic matter or even flourishing better when it is nearly absent which are most numerous in the winter; comparing this conclusion with the results of the study of the pure cultures, it seems that the flora of winter is probably composed, for the most part, of types which not only differ from those of summer, but which have very different food requirements. Now the soil under investigation is not rich in humus; and compared to the ordinary laboratory media found most favorable for the rapid liquefiers, it must be decidedly deficient in organic matter. The soil must, therefore, be a better medium for the growth of the winter flora than for that of the summer organisms, a fact which partially explains the greater numbers in winter than in summer. So much more favorable is the soil for the growth of the winter types that even in summer certain of the slow growing bacteria, which reach their maximum in winter, are able to exist in greater numbers than the typical summer organisms; the summer types, however, under the influence of the warm weather, are able then, in spite of the lack of organic matter, to multiply sufficiently to keep the winter types from increasing as much as they otherwise would. This suggests that it is not the high temperature, but the activities of the summer organisms which prevents the winter types from increasing appreciably during the warm weather; nor is it the low temperature, but rather the absence of their rivals which allows their great increase when the soil is frozen.

In other words there are apparently two classes of organisms in the soil, one growing only at moderately high temperatures, the other able to multiply when the weather is so cold as to prevent the growth of the first class. The first class, therefore, reaches its highest numbers in the warm months; but even then it is unable to increase to any great extent because of the lack of organic matter in the soil, and possibly also because of the low moisture content of the soil during the warm weather. The second class, during this season, is kept down, not by the warm weather directly, but by the hostile action of the class which is able to grow so much better at high temperatures; in the winter, however, when the summer class is repressed by the cold, the

other class is allowed to take the ascendancy, and because of its need of little organic matter, can multiply very rapidly.

One very interesting piece of evidence in support of this theory was obtained from the January samples in 1911. On the first two days of January there had been a thaw during which Plat 4 B had completely melted, but Plat 1 B had been protected by a cake of ice upon its surface and had remained partially frozen; at the time of sampling (January 4,) the following cold weather had not had time to freeze more than the very surface of Plat 4 B. Under such conditions it would be expected, if this theory holds, that Plat 4 B would contain more nearly a summer flora on January 4, than Plat 1 B, and that it would take longer in this plat for the winter equilibrium to be reestablished; such proved to be the case. From Curve II it will be seen that the numbers in Plat 4 B decreased at this time while those of Plat 1 B did not fall till later; the warm January weather, as already mentioned, seems to have prevented the numbers from increasing materially in either plat. Now turning to the Curves IV and V, the effects can be seen of these weather changes on the numbers of the three groups there listed. There was a tendency the second year as well as the first for the slow growers to increase at the expense of the Actinomycetes; but in Plat 4 B the percent of Actinomycetes greatly increased with the thaw, so that the forms resumed more nearly their autumn relations, till the latter part of February when, as shown by the total numbers, the effect of the thaw began to be less noticeable. It will also be seen that from December 19, to January 4, the whole of the decrease in numbers in Plat 4 B really lay in the slow growers, as the rapid liquefiers remained almost the same, and the Actinomycetes decreased only very slightly; while again in February the increase numerically lay wholly in this same group. On January 4, in particular, it was very noticeable that the organisms of Plat 1 B were mostly the typical winter slow growers, so that the plates showed very little liquefaction, while those of Plat 4 B were so largely rapid liquefiers that the plates were with difficulty held the usual seven days. This strongly suggests that the class of organisms in the ascendancy in frozen soil is one which is sure to be repressed as soon as a slight rise in the temperature allows the more vigorous growth of the warm weather types. This same fact also shows that the increase in winter is related to the temperature, not to the moisture content alone.

Growth of Pure Cultures at Low Temperatures.

The evidence just mentioned strongly suggests that this group of bacteria growing so slowly on ordinary laboratory media, contains members which are capable of moderately rapid growth in soil, and are able to continue their multiplication even at low temperatures; but to test this point more thoroughly pure cultures of various organisms of this group isolated from winter soil have been grown in various media at temperatures below the freezing point of water.

A difficulty encountered as soon as this plan was undertaken lay in the fact that all artificial means of freezing cultures would be likely to cause the whole medium to congeal, while in frozen soil much of the water undoubtedly remains liquid. To overcome this difficulty two methods were adopted: First a solution was prepared containing mineral matter in such high percentage that it could be submitted to quite low temperatures without freezing¹); this

¹) Its composition was: NaCl 3.3 gm, KCl 0.5 gm, NaHCO₃ 1.3 gm, K₂HPO₄ 6.7 gm, K₂SO₄ 1.3 gm, Ammonium Tartrate 0.8 gm, Dextrose 0.8 gm, Soil extract 80 cc, H₂O 420 cc.

was employed partly in liquid form, and partly as a basis for an agar medium, as it had been found that organisms of the class to be investigated grew better on the surface of agar than in solution. Secondly, solutions were mixed with fine quartz sand before freezing; for a nutrient solution, in this case, broth was sometimes used, and sometimes the same mineral solution already mentioned.

The results of this experiment can be briefly described. In frozen broth and in the mineral solution submitted to equally low temperatures, although unfrozen, no growth occurred. On agar slants made with this mineral solution as their basis a very faint growth, unquestionable, although very difficult to detect, took place at temperatures below the freezing point of water. In the cultures which contained quartz sand, moreover, either with broth or the mineral solution, a very slight growth occurred with some of the cultures, although the material was stiffly frozen; this growth was not visible but had to be detected by means of gelatin plates. On these gelatin plates, in the case of at least some of the pure cultures, colonies developed; the colonies were not as numerous as would be expected under other conditions, but there were enough of them to show that growth had actually taken place. This shows, then, that certain of the soil organisms belonging to the group most numerous in winter are capable of growth at temperatures below freezing; and it is conceivable that when their rivals are repressed by the cold, they might multiply in the soil to large numbers.

Comparison with Previous Investigations.

It was mentioned in the previous article that only two other investigations that had come to the writer's attention had included determinations of bacteria in winter soil; these two were the work of Hiltner and Störmer (loc. cit.), and that of Engberding¹). At that time a curve was published showing that the results of these investigators did not agree with those of the writer; but it was stated then that this disagreement was more apparent than real. In the case of Hiltner and Störmer this was because the weather during their investigation was very different from that while the present work was carried on; in the case of Engberding it was because only two samples were taken, both during January.

At present it is possible to do even more than this and show that the work of these other men is capable of explanation by the same theories as those employed in the case of the present work. This at least is possible in the case of Hiltner and Störmer's work; Engberding, however, has taken so few winter samples and has given so little information as to the length of time during which the soil has been frozen before his samples were taken that a real comparison is hopeless. Hiltner and Störmer's work, indeed, is much the more interesting two in its relation to the present investigation; and a comparison of the two pieces of work brings out many points which deserve mention.

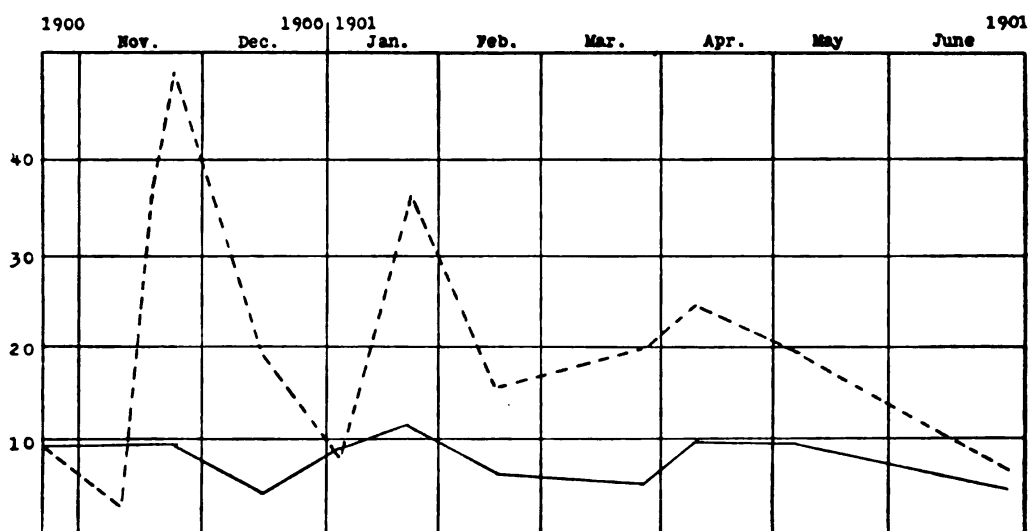
Curve VI is taken directly from Hiltner and Störmer's article and shows the variation throughout the winter months of the total numbers of bacteria in their untreated plat and in the one treated with CS₂. Before comparing their work with that of the writer, however, it must be noticed that they employed beef-extract peptone gelatin, a medium poorly adapted

¹) Engberding, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. p. 571.

to that class of slow growing organisms found so abundant here during the winter; hence it cannot be expected that these investigators would have observed such extreme increase as found in the present work.

Even making due allowance for this difference in methods, their curve seems to show, at first glance, no resemblance to that of the writer; indeed, it is not appreciably higher in winter than at any other time, and in February, instead of reaching a maximum, it is more nearly at a minimum. The winter, however, during which Hiltner and Störmer worked, was very different from the two during which this investigation was carried on; and as they have given a detailed account of the weather it is a matter of much interest to see whether the writer's explanation can be used to interpret their results as well as his own.

It will first be worth while to run through the explanation which these investigators themselves offer. They assume that cold weather is repressing



Curve VI.

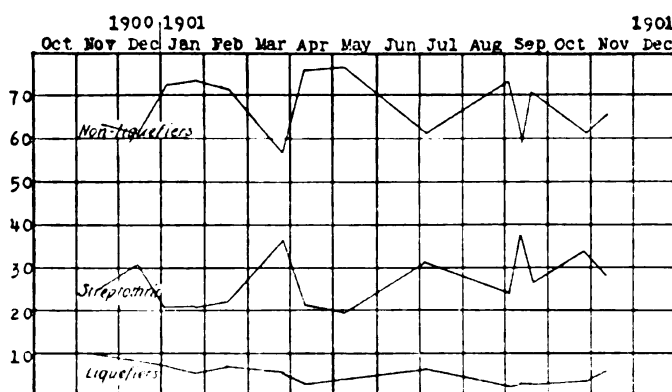
Quantitative Results of Hiltner and Störmer.

— Bacteria per gram in the untreated plat.
 - - - Bacteria per gram in the CS₂-treated plat.

in its action on soil bacteria, and that when the soil is frozen the total numbers of bacteria will be low; working on this assumption they have explained all the changes they observed. The increase during November of the bacteria in the treated plat is due to the after-effects of the antiseptic, just as shown by other investigators. The low numbers in both plats at the time of the December sample they assume to have been due to the onset of cold weather; for the weather till within five days of the date of sampling had been cold enough to freeze the soil to some extent. From the 10th to the 29th there followed rainy weather during which the writers assume that the bacteria multiplied in both plats, reaching very high numbers in the treated soil, and attaining in the untreated soil about 10 million (which they consider the normal germ-content of the soil); this is not proved, for no samples were taken after the 15th. On the 30th there was a sudden change in the weather and the soil froze to a considerable depth; this, they assume, decreased the numbers so that on January 5, both soils (particularly in the treated plat) contained fewer bacteria than would have been found had a sample been

taken during the thaw. This cold spell was not broken till January 19, when there was such a complete change in the weather as to thaw out the soil to the entire depth of the sample. During this period they suppose the numbers to have been further depressed and believe the increase shown in both plats on the 24th to have occurred during the five days of warm weather. On the 10th of February the temperature again fell suddenly; the low numbers of the sample of February 16, therefore, they conclude to be the result of the six days of frost. Although this very cold weather did not continue much into March, they assume the low numbers on March 27, to be due to the low temperature, for the temperature remained near the freezing point till after the sample had been taken; they suggest, indeed, that the changes of the surface soil from frozen to thawed condition may be especially detrimental. For this March sample, however, they used none but the thawed soil, discarding that which was frozen.

Thus Hiltner and Störmer explain the results. Is it possible to interpret them differently so as to make them agree with those of the writer of the present article? To establish such an agreement there are two points to bring out: that there was a seasonal variation in their experiment as well as in the writer's, and that cold has in both cases had a depressing



Curve VII.

Relative Numbers of the Three Groups recognized by Hiltner and Störmer.

The Curves represent the percent of each group occurring in the various samples. effect only until the winter types have had time to take the ascendancy, after which a rapid increase has occurred.

The first of these points cannot be established from Hiltner and Störmer's data, as they did not make any qualitative study of the organisms; it is possible, however, from their division of the colonies into the three groups (liquefiers, non-liquefiers, and *Streptothrix*), to obtain information of some value. These three groups, as remarked above, correspond quite closely to the three recognized in the present work, although they are given slightly different designations. Curve VII shows the percentage of these three groups in their samples, and can be compared with Curve V giving the same data for the present work. Their curve is quite unlike the writer's on first sight; but there are some points of similarity. It will be seen that if their March sample is not considered they notice exactly the same tendency mentioned by the writer for the two curves representing the Actinomycetes and the slow growers (or the *Streptothrix* and non-lique-

fiers) to approach each other in the fall and to diverge in winter and spring; and the March sample, it will be remembered, was taken after a spell of freezing and thawing of the soil such as is more likely to be noticed in the fall, and was not observed here in the spring while the present investigation was in progress. It must also be remarked again that the medium used by these investigators was not adapted to the slow growers, a fact which must have tended to prevent the great divergence of this group from the Actinomyces that was noticed so often by the writer. Their results, then, show enough similarity to those of the writer to suggest a seasonal variation quite similar to that observed here.

If, then, there was a seasonal variation in the earlier work, quite similar to that observed here during the last two years, we are perfectly justified in assuming that the effects of the winter might be the same in both cases. Do the quantitative data bear out such an assumption?

The early increase in Hiltner and Störmer's CS₂-treated plat needs no explanation other than that it is due to the after-effects of the antiseptic. It must be remembered, however, as Hiltner and Störmer as well as other investigators have shown, that the CS₂ causes a great change in the bacterial equilibrium of the soil, allowing the increase of very different organisms from those ordinarily in the ascendancy; hence the flora of November and December in this plat must be regarded as decidedly abnormal. Before the winter bacteria can take the ascendancy in this soil, therefore, this abnormal flora must be depressed; hence the great decrease in this plat during December and January. It must, moreover, take longer for the winter types to gain the ascendancy here than in the other plat, because the artificial conditions resulting from the treatment have given great vigor to the abnormal group of organisms; hence the total numbers in this plat do not reach their minimum till after those of the untreated plat have commenced to increase. Later the winter bacteria obtain the ascendancy, and the effect of the antiseptic still acts in some way so as to keep their numbers higher than in the untreated soil; they do not, however, reach the great height they attained in November.

The untreated plat, meanwhile, reached its minimum in December when the weather was cold and rainy, unfavorable for both the summer and winter classes; such a decrease was observed by the writer in similar weather. During the five cold days, however, which preceded the first January sample, the winter flora commenced to take its ascendancy in this soil, allowing a moderate increase by the time the sample was taken. The numbers, according to this explanation, must have continued to increase while the soil remained frozen; this increase is not shown, as the next sample was not taken till after the thaw. The results, however, on January 24, five days after the thaw, are high in both plats, and it is perfectly possible that this increase occurred during the cold weather preceding and not in the five days following the thaw; there is nothing, indeed, to prove that the numbers would not have been still higher if the soil had been sampled on the 19th. In connection with the writer's results showing that even the enormous increase of winter takes place slowly, such an explanation of the increase in their treated plat seems more probable than that which they themselves adopt: namely that all the multiplication took place in the five days of warm weather.

This warm weather continued till the 10th of February and must have had time to depress the winter flora in both plats. The February sample

was taken just six days after the thaw was broken, and the writer's work seems to show that a week is not a long enough time for the cold weather to allow the winter flora to reassert itself. This explains the low numbers found in the sample of February 16. The writers do not describe the weather following this sample, and it is impossible to be sure how long the soil remained frozen; by the 27th of March, however, the winter was practically over, but the soil was still partly frozen. Their results on March 27, however, are meaningless for purposes of comparison, as they discarded that portion of the soil which was frozen. It is perfectly possible, therefore, that the numbers may have increased to still higher numbers during the cold weather of late February and early March, and that in the frozen part of the soil they had not even fallen much by March 27.

Besides this work which these investigators carried on during the year 1900—01, they took a few samples the following year in an experiment to study the effects of fallow; one sample from each of four plats was taken on February 1. The results of all four of these winter samples were not high; but the authors remark that the winter of 1901—1902 was very mild, and the soil was at no time completely frozen. Hence the results of these determinations do not disagree with those of the present investigation.

It seems, from this comparison, that it is not impossible to apply to Hiltner and Störmer's work an explanation similar to that adopted to account for the results of the present investigation. Considering the difference in the locality, in the weather, and in the media employed, and the probable differences in the soil, it is certainly remarkable that the two investigations can be shown to agree as well as this.

Concluding Remarks.

At the end of the previous article the question was discussed whether the bacteria actually multiplied in frozen soil. It was concluded then that they did, and the present work seems to confirm that matter beyond doubt. As the errors have all been checked up there seems no question but that the numbers actually increased. That this increase was due to an actual multiplication seems probable when we consider that increase and decrease have taken place in soils according as the surface has frozen or thawed even though the lower soil has remained sufficiently frozen to have prevented the rise or fall of soil moisture; that it is one group in particular to which is due most of the increase on freezing and decrease on thawing; that noticeable increase has proved possible even in soil frozen in a pot; and that certain of the organisms characteristic of winter soil have been found capable of some growth in pure cultures at temperatures below the freezing point of water.

What is the significance of this? Does it mean that some organisms, contrary to past experience, are capable of better growth at low temperatures than high? Probably not. It must be remembered first that the soil was at no time more than half of one degree centigrade below freezing, and that there must have been much of the soil solution still unfrozen at this temperature. As mentioned in the previous article, it is no new experience to find organisms growing at these temperatures, as fruit and meat will spoil when kept in cold storage. Recently, indeed, Dr. Stiles and Dr. Mary E. Pennington¹⁾ have shown that ice cream kept frozen is a medium in

¹⁾ Stiles and Pennington, U. S. Hygienic Lab. Bull. 56. p. 263.

which certain bacteria seem able to increase rapidly. There is nothing new, then, in the fact that bacteria are capable of growth at temperatures as low as those considered in the present work.

It must be remembered secondly that the increase during the winter has been almost wholly in one group, and that many of the most vigorous summer bacteria have disappeared in winter. The results, indeed, have suggested that the increase in frozen soil was due not to the favoring influence of the cold weather, but to its repressing influence on the rivals of that group of bacteria which is capable, when unhindered, of making the greatest growth. It is possible, therefore, to explain the results without refuting the dogma of physiology that growth cannot occur rapidly at temperatures as low as the freezing point of water.

The only significance of these results, then, seems to lie in the fact that they show the existence of a group of organisms capable of great multiplication in soil when unhindered, but so weak in comparison to the other bacteria that its increase can occur only in winter when the low temperature prevents the rapid growth of its rivals.

Summary.

1. Quantitative determinations carried on in the same field as that sampled in 1909—10 have shown during the following year an increase in numbers of bacteria in frozen soil almost as great as that noticed the first winter.

2. During the second winter the numbers have increased while the soil has been well frozen, but have decreased whenever it thawed.

3. Throughout most of the year the numbers of bacteria have been nearly parallel with the moisture content; but these fluctuations in winter as the soil was frozen and thawed have shown no relation to the moisture.

4. This increase during the winter seems to be due to an actual multiplication of the bacteria, rather than to a mere rise of the organisms from lower depths brought about by mechanical forces alone.

5. The greatest increase during the winter occurs in a group of bacteria called here slow growers, a group readily distinguished by its gelatin colonies from the two other large groups, rapid liquefiers and Actinomycetes.

6. Qualitative work with pure cultures has shown that certain types of soil bacteria occur throughout the year; but that others apparently exist in the soil investigated for short periods only, and tend to reccur at other times under similar weather conditions. The greatest variety of these types has been found in fall and winter.

7. This seasonal variation suggests a possible explanation for the increase during the winter. It

Table VI. Weather Conditions on Days of Sampling.

[illegible]

Table VII. Temperature and Rainfall, by weeks.

Week	Atmospheric temperature; average of daily means ° C	Average soil tempe- rature ° C	Rain- fall mm	Days of greatest rainfall and thaws
Mar. 28,—Apr. 3, 1909	3.2	—	7.9	Mar. 30, Apr. 2,
Apr. 4,—10,	7	—	7.1	Apr. 9,
Apr. 11,—17,	6.5	—	38	Apr. 13, 14,
Apr. 18,—24,	8.5	—	3.1	Apr. 21,
Apr. 25,—May 1,	4	—	47.5	Apr. 30, May 1,
May 2,—8,	9.5	12.2	2.4	May 3,
May 9,—15,	15.5	12.8	22.1	May 10, 14,
May 16,—22	13.5	12.2	1	May 18,
May 23,—29,	14	14	9.6	May 27, 29,
May 30,—June 5,	17.5	16	18.6	June 5,
June 6,—12,	15.5	15.5	32	June 10,
June 13,—19,	16.5	16.5	42	June 13, 17,
June 20,—26,	24	21	8.4	June 22,
June 27,—July 3,	21.5	19	1.3	July 3,
July 4,—10,	17.5	18.3	0.0	
July 11,—17,	23	18.3?	6.6	July 16,
July 18,—24,	18	18.3	30	July 24,
July 25,—31,	23	20.5	2.8	July 29,
Aug. 1,—7,	21	21.5	0.0	
Aug. 8,—14,	20.5	21	0.0	
Aug. 15,—21,	17.5	18.3	31.6	Aug. 15, 16, & 19,
Aug. 22,—28,	20.5	17.8	7.9	Aug. 26,
Aug. 29,—Sept. 4,	16	15.5	2.4	Aug. 29,
Sept. 5,—11,	15.5	—	33	Sept. 10,
Sept. 12,—18,	19	20	12.7	Sept. 16,
Sept. 19,—25,	15.5	—	26.9	Sept. 26,
Sept. 26,—Oct. 2,	11.5	—	6.4	Sept. 30,
Oct. 3,—9,	13	12	0.0	
Oct. 10,—16,	6.5	—	32.5	Oct. 11,
Oct. 17,—23,	5.5	—	18.	Oct. 21, 23,
Oct. 24,—30,	4.5	—	2.8	Oct. 24,
Oct. 31,—Nov. 6,	9.5	—	4.1	Nov. 4,
Nov. 7,—13,	6.5	—	2.9	Nov. 8,
Nov. 14,—20,	6.5	7	2.9	Nov. 17,
Nov. 21,—27,	3.5	—	16.0	Nov. 25,
Nov. 28,—Dec. 4,	+2	—	1.3	Nov. 28,
Dec. 5,—11,	—2	—	2.4	Dec. 7,
Dec. 12,—18,	—2	—		
Dec. 19,—25,	—4.5	—		
Dec. 26,—Jan. 1, 1910	—7.5	0.5		
Jan. 2,—8,	—6.5	0.5	Soil	
Jan. 9,—15,	—6	0.5		
Jan. 16,—22,	—1.	0.5		
Jan. 23,—29,	—1.5	0.5	snow	
Jan. 30,—Feb. 5,	—3.5	0		
Feb. 6,—12,	—6.5	0		
Feb. 13,—19,	—5	0		
Feb. 20,—26,	—7	0		
Feb. 27,—Mar. 5,	+5	—	10.6	Feb. 27, 28,
Mar. 6,—12,	1.5	—	4.3	Mar. 6,
Mar. 13,—19,	0	7	1	Mar. 14,
Mar. 20,—26,	7.1	—	0.5	Mar. 20,
Mar. 27,—Apr. 2,	13.5	10	0.0	

Table VII (continued). Temperature and Rainfall, by weeks.

Week	Atmospheric temperature; average of daily means ° C	Average soil tempe- rature ° C	Rain- fall mm	Days of greatest rainfall, and thaws
Apr. 3,—9,	10.3	7.5	10.4	Apr. 6, 7,
Apr. 10,—16,	8	7	7.6	Apr. 11,
Apr. 17,—23,	11	9.5	35.8	Apr. 19,
Apr. 24,—30,	10.2	8.3?	39.5	Apr. 24, 29,
May 1,—7,	11	9.5	22.1	May 3,
May 8,—14,	9.2	10	10.2	May 9,
May 15,—21,	14	13.3	16.8	May 20,
May 22,—28,	15	13.3	49	May 24,
May 29,—June 4,	11	12.2	9.1	June 1, 2, 3, & 4,
June 5,—11,	13.4	13.3	24.5	June 6, 11,
June 12,—18,	18.5	18.3	3.8	June 16,
June 19,—25,	18.5	19	0.0	
June 26,—July 2,	22.8	19	0.2	
July 3,—9,	22.5	21	0.8	July 7,
July 10,—16,	24	20.5	32.5	July 12, 16,
July 17,—23,	20.5	20.5	Trace	
July 24,—30,	23.5	20.5	7.8	July 27, 29,
July 31,—Aug. 6,	19.5	20.5	5.3	Aug. 1,
Aug. 7,—13,	19	20	22.5	Aug. 10,
Aug. 14,—20,	20.5	21	11.2	Aug. 18,
Aug. 21,—27,	20.8	20	14	Aug. 26,
Aug. 28,—Sept. 3,	18	18.3	25.4	Sept. 3,
Sept. 4,—10,	19.2	18.3	17.8	Sept. 6,
Sept. 11,—17,	14.8	15.5	4.3	Sept. 13,
Sept. 18,—24,	16	16	9.1	Sept. 24,
Sept. 25,—Oct. 1.	16.6	15.5	61	Sept. 25,
Oct. 2,—8,	13.6	15	31	Oct. 6,
Oct. 9,—15,	11	11.6	Trace	
Oct. 16,—22,	13.4	12.8	5.8	Oct. 22,
Oct. 23,—29,	6.7	8.3	27.5	Oct. 25,
Oct. 30,—Nov. 5,	4.5	6.7?	26.6	Nov. 4,
Nov. 6,—12,	1.7	4.5?	11.8	Nov. 9,
Nov. 13,—19,	1	2.8	4.1	Nov. 19,
Nov. 20,—26,	2.3	2.8	10	Nov. 25,
Nov. 27,—Dec. 3,	—1.6	1.8	} Soil snow covered	
Dec. 4,—10,	—8.5	1.8		
Dec. 11,—17,	—8	1		
Dec. 18,—24,	—4	1		
Dec. 25,—31,	—4.7	0.5		
Jan. 1,—Jan. 7, 1911	—4	0.5	6.4	Thaw, Dec. 28—9,
Jan. 8,—14,	0	0.5	5	Soil thawed Jan. 1, 2,
Jan. 15,—21,	—4.8	0.5	21.5	Thaws on 8, 11, & 13-14,
Jan. 22,—28,	+1	0.5	6.5	Soil snow covered till 20th.
Jan. 29,—Feb. 4,	—3.7	0		Thaw on 25,—27,
Feb. 5,—11,	—3.5	—0.5	} Soil snow covered	
Feb. 12,—18,	0	—0.5		
Feb. 19,—25,	—4.5	—0.5		
Feb. 26,—Mar. 4,	—2.5	—0.5		
Mar. 5,—11,	—3.6	0		
Mar. 12,—18,	—1.7	0	6.9	Mar. 12,
Mar. 19,—25,	—1.4	3.3?	8.1	Mar. 20,
Mar. 26,—Apr. 1,	+2.5	7.2?	23.3	Mar. 26, 27,
Apr. 2,—8,	3	—	18	

is probable that a different class of bacteria is in the ascendancy in winter from that which is benefited by the warm weather of summer; and it may be the hostile effect of the summer organisms which prevents the other types from multiplying rapidly in warm weather. In that case the increase in frozen soil is not due directly to the low temperatures but to the depressing effect of the cold upon that group of bacteria which is able in summer to keep the winter bacteria in check.

Addenda. Since writing the above, the author has learned through a personal letter from Prof. W. M. Esten of Storrs, Connecticut, that work carried on at the Connecticut Agricultural College under his direction has confirmed these results. Prof. Esten states that from January to March in 1911 they observed considerable increase in the numbers of bacteria in five different kinds of soil studied; in uncultivated soil, however, which has been kept in sod or grass, they observed no increase. In those cases where an increase was observed, there was a pronounced decrease after the soil thawed.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Morphologie und Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Greifswald. Direktor: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. Loeffler.]

Von Hugo Zipfel,
Assistenten am Institute.

Im Jahre 1886 faßte Hellriegel auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte zu Berlin in seinem Vortrage über die den Pflanzen zu Gebote stehenden Stickstoffquellen das Ergebnis seiner teilweise in Gemeinschaft mit Wilfarth ausgeführten Untersuchungen dahin zusammen: Die Leguminosen sind nicht wie alle anderen Pflanzen auf den Stickstoff des Bodens (gebundenen Stickstoff) angewiesen, sondern sind vielmehr imstande, den in der Luft in ausgiebiger Weise vorhandenen freien Stickstoff für Ernährungszwecke sich nutzbar zu machen und zwar vermittels spezifischer Organismen, die mit ihnen in ein symbiotisches Verhältnis treten.

Diese seinerzeit allgemeines Aufsehen erregenden Behauptungen stellten die umfangreichen Untersuchungen Boussingaults, nach denen es als erwiesen galt, daß die Pflanzen atmosphärischen Stickstoff aufzunehmen nicht in der Lage waren — Untersuchungen, die von verschiedenen Forschern nachgeprüft, voll und ganz bestätigt und zum Teil noch erweitert worden waren — mit einem Male außerordentlich in Frage und regten zum weiteren Studium der Wurzelknöllchen der Leguminosen und ihrer Bedeutung für die Ernährung der Pflanzen resp. ihrer Beziehung zur Stickstoffassimilation an.

Zweite Abt. Bd. 32.

7

Das Augenmerk der Forscher war zwar immer schon in hohem Maße auf die Wurzelknöllchen gerichtet gewesen; schon 1586 erwähnt *Déchamp*s in seiner *historia generalis plantarum* die Knöllchen und ein Jahrhundert später 1687 liefert *Malpighi* die erste genaue Beschreibung derselben. Auch über das Wesen und die Funktionen der Knöllchen hatten sich im Laufe der Zeit die verschiedensten Meinungen gebildet: während ein Teil der Forscher die Knöllchen für pathologische Gebilde hielt, sahen wiederum andere in ihnen normale Gebilde, so daß wir in der älteren, recht umfangreichen Literatur die Knöllchen gedeutet finden: als Insektengallen (*Malpighi*), als krankhafte Auswüchse (*de Candolle*), als fehlgeschlagene Nebenwurzeln (*Gasparini*), als unvollkommene Knospen mit knolliger Grundlage (*Treviranus*), als wasseraufsaugende Schwammwurzeln (*Kolaczek*), als Speicherorgane stickstoffhaltiger Nahrungsstoffe (*Nobbe*) und als adventive Wurzelzweige mit beschränktem Längenwachstum (*de Vries*).

Aber alle diese mannigfachen Untersuchungen hatten noch keine befriedigende Lösung der Knöllchenfrage gebracht.

Eine neue Wendung bekam sie erst im Jahre 1866 durch *Woronin*. Obwohl schon 1858 *Lachmann* in den Knöllchen bewegliche Stäbchen beobachtet hatte, ohne sie aber irgendwie in ursächliche Verbindung mit den Knöllchen zu bringen, machte als erster *Woronin*, der ebenfalls bei seinen Untersuchungen der Wurzelanschwellungen der Lupine in deren Knöllchenzellgewebe Bakterien fand, diese für die Entstehung der Knöllchen allein verantwortlich.

In der Folgezeit traten nun einzelne Forscher (*Eriksson*, *Kny*, *Prillieux*, *Schindler*) für den bakteriellen Ursprung der Knöllchen ein (letztenannter stellte auch als erster die Hypothese einer Symbiose zwischen Bakterien und Pflanze auf). Freilich bei der Mehrzahl der Botaniker stießen diese Anschauungen auf den heftigsten Widerspruch; denn diese wollten von einer Bakterienwirkung nichts wissen, sondern verwiesen die Knöllchen in das Gebiet der Pflanzenmorphologie resp. -biologie.

Vor allem war es *Frank*, der mit einer gewissen Schärfe und mit einer nicht immer gerechten Kritik seiner Gegner die botanische Richtung vertrat, wenn er auch im Laufe der Zeit seine Ansichten über die Knöllchen mehrfach modifizierte; hielt er zuerst die Knöllchen für durch Pilzhypen hervorgerufene Wurzelgebilde und die sogenannten Bakterien für Sproßzellen, die durch Abschnürung aus den Hyphen entstanden, so schloß er sich später der Anschauung seines Schülers *Brunchorst* an und sah in den Knöllchen nur noch normale Gebilde der Leguminosen, die dazu bestimmt waren, stickstoffhaltiges Material aus dem Boden aufzunehmen und aufzuspeichern.

Brunchorst erweiterte und ergänzte *Franks* Ansichten. Die Hauptergebnisse seiner Forschungen waren im großen und ganzen folgende: Die Knöllchen sind nicht bakteriellen Ursprungs, sondern natürliche Organe der Leguminosen; sie haben die Aufgabe, vermittels der fermentartig wirkenden Bakteroiden — so nennt er die von anderen Forschern als Bakterien bezeichneten Gebilde — aus dem von den Pflanzen aus dem Erdboden aufgenommenen Stickstoff und aus den in den Blättern erzeugten Kohlehydraten Eiweiß zu bilden.

Die „Bakteroiden“ sind nichts anderes als durch Plasmadifferenzierung

entstandene Eiweißkörper, die ihrer Form, Größe und Färbbarkeit nach wohl an Bakterien erinnern, mit diesen aber nichts zu tun haben.

Gleichzeitig suchte dann auch Tschirch in einer umfangreichen Arbeit das „Bakterienlose der Bakteroiden“ zu beweisen. Mit wenigen Abweichungen (so weist er entschieden die Fermentnatur der Bakteroiden zurück) stimmt er größtenteils mit den Ansichten Franks und Brunchorsts überein.

Als gewichtigsten gegen den bakteriellen Ursprung der Knöllchen sprechenden Grund führte er an, daß es ihm niemals geglückt sei, einen Organismus, der den Bakteroiden gliche, weder aus den Knöllchen noch aus dem Boden zu züchten.

Nach seiner Deutung gehören die Bakteroiden zu den Eiweißkörpern, speziell zu denen, die chemischen Einflüssen gegenüber sich recht widerstandsfähig verhalten und die ihres niederen Schwefel- und hohen Phosphorgehaltes wegen zu den Pflanzenkaseinen zu rechnen sind.

Die Knöllchen dagegen sind nur Vorrats-, nicht Aufnahmeorgane, die ihren Inhalt den Pflanzen zur Samenreife zugute kommen lassen.

Eine Klärung der Knöllchenfrage führten auch die Versuchsergebnisse Hellriegels noch keineswegs herbei. Erst dann hatten die Behauptungen dieses Forschers volle Beweiskraft, wenn es gelang, den knöllchen-erregenden Organismus rein zu züchten und mit Reinkulturen desselben erfolgreiche Infektionsversuche anzustellen.

Als erster hat wohl, wie oben schon erwähnt, Tschirch 1887 versucht, den infizierenden Mikroben zu isolieren, indem er in die verschiedensten Nährmedien, teils flüssigen, teils festen (Leguminosenpflanzenauszüge mit und ohne Nährsalzzusatz, Bodenextrakt mit und ohne Gelatine) Aussaaten aus Knöllchen und Boden machte.

Bei der Durchmusterung der Nährböden fand er aber nichts, was den Bakteroiden glich, obwohl, wie er sagt, diese Formen nicht zu übersehen wären, da sie zu sehr von den bekannten abwichen. Zweifelsohne hat er aber, wenn auch unbewußt, echte Stäbchenformen der Knöllchenbakterien vor sich gehabt.

Schon nach Jahresfrist 1888 gelang es Beijerinck, Reinkulturen der Knöllchenbakterien herzustellen, und zwar auf einer mit Äpfelsäure leicht angesäuerten und mit Rohrzucker und Asparagin versetzten Gelatine, in der das Fleischwasserpepton durch einen Absud von Papilionaceenblättern ersetzt war.

Nach seinen Angaben tritt der Bazillus neben der Stäbchenform auch noch als außerordentlich kleiner Schwärmer auf; die letzteren dringen vom Erdboden aus in die Wurzelhaare der Leguminosen ein und bilden dort den sogenannten Infektionsschlauch, i. e. eine Anhäufung in Schleim eingebetteter Bakterien. Nach und nach wachsen die Schwärmer zu Sporen aus, werden dann, wenn sie längere Zeit in dem Plasma gelebt haben, zu jenen verzweigten Y-förmigen Gebilden und verlieren zuletzt ihr Wachstumsvermögen.

Je näher die Bakterien dem Bakteroidenstadium sind, um so schwerer lassen sie sich kultivieren.

Er gibt dann des weiteren noch verschiedene kulturelle und morphologische Eigentümlichkeiten des von ihm *Bacillus radicola* genannten Organismus an (Tabelle). Infektionsversuche anzustellen, die allein

Name des Forschers	Nährsubstrat. Reaktion	Makro- resp. mikroskopisches Aussehen der Kolonien	Größe und Form der isolierten Organismen
Beijerinck	Papilionaceenstengel- oder -Blätter dekocht mit Asparagin u. Traubenzucker versetzt; mit Gelatine solidifiziert Reaktion: schwach-sauer	Zwei Varietäten: 1) größere Kolonien hyalines Aussehen 2) kleinere Kolonien weiß, opak.	drei Modifikationen: 1) Schwärmer 0,9 μ —0,18 μ 2) Stäbchen 4 μ —1 μ einseitig neben der Mitte gebuckelt 3) Bakteroiden.
Flügge	Leguminosengelatine; auf gewöhnlicher Gelatine nur langsames Wachstum.	Kolonien sind halbkugelig, weißlich, hyalin oder etwas trübe; die größeren sind wässrig; die kleinen fest, in einem Stück abhebbar.	kleinere Schwärmer 0,18—0,9 μ größere Stäbchen ca 1 μ —4 μ häufig gebuckelt, auch z. T. unregelmäßig geformt, manchmal gabelförmig oder dreiarmlige Körperchen, ganz ähnlich den Bakteroiden des Knöllcheninhaltes
Harrison u. Barlow	Abkochung von Holz-asche unter Zusatz von Maltose mit Agar solidifiziert. Holzasche-Zuckerlösung. Reaktion: schwach-sauer.	Tiefenkolonien: klein, rund elliptisch bis dreieckig. Oberflächenkolonien: feucht, durchscheinend, weiß, paraffintropfenähnlich, erst glänzend, dann opak werdend; nach und nach sistiert das Wachstum; der Schleim wird dünnflüssig.	kleine schmale Stäbchen, einzeln oder zu zweit; oft an einem Ende oder in der Mitte verdickt, oft gebogen; Verzweigungen selten
Hiltner	Gelatine oder Agar; anstelle der Blätterdekokte Wurzelextrakt 0,2% (hergestellt durch Eindampfen und Trocknen bei 102°) Traubenzucker 1 % Asparagin 0,1—0,2% Agar natursauer Gelatine neutralisiert u. dann mit Äpfelsäure angesäuert	kleine schleimige Kolonien	kokkenartige Kurzstäbchen = die Schwärmer Beijerincks die Stäbchen (Beijerinck) stellen schon die Anfangsstadien der Bakteroiden dar
Kirchner	Beijerincks Nährgelatine mit Sojakrautdekot. schwachsauer Reaktion	kleine, erhabene, rundliche Tropfen von durchscheinender Farbe und paraffinähnlichem Aussehen	Stäbchen, meist leicht gebogen; 3,2 μ —3 μ lang 0,8 μ dick
Laurent	Erbsengelatine mit und ohne Asparagin Reaktion: schwach alkalisch bis neutral,	weißlich glänzende Oberfläche, bei genügender Übung leicht zu erkennen. Kräftig entwickelte Kolonien zeigen	Stäbchen; in Erbsenbouillon neben Stäbchen auch Bakteroiden

Beweglichkeit	Färbbarkeit	Sporenbildung	Wachstumsbedingungen	Bemerkungen
Schwärmer und Stäbchen zeigen lebhafteste Beweglichkeit. Geißelfaden jedenfalls am Hinterende. B. hat ihn selbst aber nicht gesehen		Sporenbildung fehlt; die im Innern der Bakteroiden befindlichen stark lichtbrechenden Körperchen sind nicht als Sporen anzusehen	Optimum: Zimmerwärme bei 0°—10° noch Wachstum über 47° hört es auf; 60°—70° tötet den Organismus ab	Gelatine wird nicht verflüssigt
Stäbchen sind nicht beweglich			aerob	Gelatine nicht verflüssigend
in jüngeren Kolonien sehr beweglich, in älteren wenig. In noch wachsenden Kolonien finden sich immer bewegliche, monotrich	die Organismen lassen sich gut färben mit Methylblau, Nachtblau, Fuchsin, sind grampositiv, wenn nach der Kiskalt-schen Methode gefärbt wird			Gelatine wird nicht verflüssigt
kräftige Eigenbewegung	gut und homogen färbbar mit Karbolfuchsin	Sporenbildung nicht nachgewiesen	Temperatur von 60°—70° genügt die Bakterien abzutöten	verflüssigt Gelatine nicht
ohne Bewegungsvermögen	nehmen Farbstoffe leicht auf (Eosin, Fuchsin, Gentianaviolett) zeigen in ihrem Inhalt einige Körnchen von dunkler Färbung			keine Verflüssigung der Gelatine
Eigenbewegung	Schleim färbt sich mit Dahlia	die im Innern der Stäbchen befindlichen licht-	Optimum: 22°—26° bei 10° noch kräftiges Wachstum bei 30° hört es auf.	

Name des Forschers	Nährsubstrat. Reaktion	Makro- resp. mikroskopisches Aussehen der Kolonien	Größe und Form der isolierten Organismen
	in sauren Nährmedien kein Wachstum	auffallend schleimige Beschaffenheit.	
Lehmann	Leguminosengelatine; auch auf Kartoffeln gutes Wachstum; auf gewöhnlicher Gelatine schlecht wachsend	Kolonien rundlich, etwas gewölbt, weißlich, schleimig.	Stäbchen; jüngste Formen 1μ ; es gibt auch Formen, die am Ende verdickt sind oder gegabelt, Y-förmig
Löhnis	Mannitbodenextrakt-agar; sehr üppiges Wachstum	kreisrunde, weiße, durchscheinende schleimige Tröpfchen	Kurzstäbchen mit abgerundeten Ecken 1) kleinere Formen $\frac{1}{3}\mu - \frac{1}{2}\mu$: $1\mu - 1\frac{1}{2}\mu$ 2) gewöhnliche Formen: $\frac{3}{4}\mu$: $1 - 2\mu$ selten bis 3μ
Migula	Leguminosengelatine, auf gewöhnlicher Gelatine mangelhaftes Wachstum	ziemlich große, trübe, weiße durchscheinende, feuchte, rundliche oder etwas unregelmäßig umrandete Kolonien; wenig charakteristisches Aussehen	Stäbchen $0,9\mu - 3 - 4\mu$ leicht abgerundete Enden, Kleine Schwärmer (Beijerinck) hat er nicht beobachtet
Prazmowski	Nährgelatine nach Beijerinck. Nährlösungen mit verschiedenen Salzen. Reaktion: schwach-sauer. Wachstum nach 5—6 Tagen, je nach Vegetationskraft; auch schon am 3. Tag	Gelatine: kleine weißliche Punkte; nach und nach Gestalt von sphärisch oder länglichovalen, milchigweißen, perlmutterglänzenden Tropfen annehmend; nicht eingesenkt; erhaben an Stearintropfen erinnernd, nach 14 Tagen sind sie ausgewachsen, verlieren Glanz und Farbe, werden wässrig und matt. Nährlösung, leichte Trübung, dann milchig, um sich schließlich nach Bildung eines Bodensatzes zu klären	anfangs kleinere Stäbchen; später auch größere. $2\mu - 3\mu$: $0,2\mu$ gegen Ende der Vegetation werden die Stäbchen klein und verdichten sich zu unregelmäßigen Kolonien
de Rossi	Leguminosenblätter (10%—20%) — — — — — samen (5—10%) mit 1%—3% Zucker mit Gelatine solidifiziert. Reaktion: leicht alkalisch bis leicht sauer, am besten neutral Wachstum nach 5—6 Tagen	erhaben weißliche Körperchen, auf Peptongelatine: weißer Belag	Bazillen $0,5 - 0,6\mu$: $2,5 - 3,5\mu$ gerade oder gebogen, ohne eigenartige Struktur; auf gesalzener Peptongelatine plumpe Stäbchen wie Kokken

Beweglichkeit	Färbbarkeit	Sporenbildung	Wachstumsbedingungen	Bemerkungen
nicht wahrgenommen	violett, mit Jod gelb; gibt keine Cellulosereaktion	brechenden Körperchen sind endogene Sporen	Knöllchen müssen 5 Min. auf 95° erhitzt werden, um Infektionstüchtigkeit einzubüßen. Erbsenbouillon m. 10/∞ = KNO ₃ zum Gedeihen ungeeignet	Kein Peptonisierungsvermögen
polare Geißeln		nicht beobachtet	in Nährböden, die viele Kohlehydrate enthalten, entstehen starke Verzweigungen, ähnlich denen in den Knöllchen.	Gelatine wird nicht verflüssigt
Beweglichkeit vorhanden; trotz mehrfacher Wiederholung hat er nie einwandfreie Geißelpräparate erhalten	gut färbbar mit allen gewöhnlichen Anilinfarben; die kleineren Formen sind gramnegativ; die größeren Formen dagegen grampositiv	nicht beobachtet	Fleischgelatine. agar kümmerliches Wachstum; ebenso in Bouillon. In Milch findet erst nach längerer Zeit Kaseinabspaltung statt	verflüssigt Gelatine nicht
nur langsam beweglich; in künstlichen Kulturen manchmal unbeweglich		nicht beobachtet	—	Gelatine wird nicht verflüssigt
äußerst lebhaft beweglich	normale Stäbchen färben sich mit Methylviolett intensiv; die lichtbrechenden Körperchen nehmen den Farbstoff nicht auf	nicht wahrgenommen; die in den Bakteroiden liegenden lichtbrechenden Körperchen sind keine Sporen	bei 75° sterben die Bakterien nach 3—5 Minuten ab	nicht peptonisierend; das Vermögen außerhalb der Pflanze Stickstoff zu assimilieren ist sehr gering
typisch peritrich; 8—10 Geißeln, sehr empfindlich, brechen leicht ab, Präparate schwierig herzustellen	jede basische Anilinfarbe färbt intensiv; gramnegativ; in einige Tage alten Kulturen nimmt der Bacillus an einer oder mehreren Stellen keine Färbung an	nicht beobachtet	bei 0°—1° nicht entwicklungsfähig bei 4°—6° langsam wachsend bei 25°—30° Optimum; bei 37° negatives Resultat. 10 Min. auf 47° erhitzt, tötet den Bacillus ab; Knöllchen können ohne Schaden 10	Gelatine wird nicht verflüssigt Stickstoffbindung außerhalb der Pflanze findet nicht statt

Name des Forschers	Nährsubstrat Reaktion	Makro- resp. mikroskopisches Aussehen der Kolonien	Größe und Form der isolierten Organismen
Zinsser	kein Wachstum auf Beijerincks Gelatine; wohl aber auf Kiesel-säuregallerte nach Winogradsky langsames Wachstum nach ca 8 Tagen	kleine, weiße Kolonien. Unterschied oder sonstige Differenzierende Kennzeichen der aus den verschiedenen Leguminosen gewonnenen Kulturen nicht festgestellt	Stäbchen ca. 1 μ lang; gegen verdünnte Säuren wenig empfindlich

nur den Beweis der Identizität des gezüchteten Mikroben mit dem in den Knöllchen vorkommenden erbringen konnten, unterließ er, weil er seiner Sache vielleicht doch nicht ganz sicher war; es war immerhin nicht ausgeschlossen, daß der gezüchtete Organismus nachträglich in die Knöllchen eingedrungen war, ohne selbst mit diesen etwas zu tun zu haben.

Erst Prazmowski führte kurze Zeit später diese Versuche mit vollem Erfolge durch, und erbrachte somit als erster den Beweis der Spezifität des knöllchenerregenden Mikroorganismus, dem er, abweichend von Beijerinck, mit Rücksicht auf die mangelnde Sporenbildung den Namen *Bacterium radicicola* beilegte.

Bei seinen Knöllchenuntersuchungen fand dieser Forscher in den Haaren und in den Epidermiszellen der Leguminosenwurzeln stark glänzende, unregelmäßig gewundene Fäden, die unter vielfacher Verästelung in den inneren Rindenpartien vermehrte Gefäßneubildungen verursachten. Im Innern dieser mit einer derben Membran ausgestatteten Fäden fand er stäbchenförmige Gebilde, die durch die Lebenstätigkeit der Pflanze eigenartige Veränderungen erfuhren. Diese äußerten sich darin, daß zuerst eine Abschwächung der Vegetationskraft eintrat, und daß dann weiterhin diese Stäbchen sich in besondere, sogenannte Bakteroidenformen umwandelten, um dann schließlich als degenerierte Bakterienmassen, als Eiweißkörper, durch Zellsaft in Lösung gebracht, den Leguminosen zur Deckung ihres hohen Stickstoffbedarfs zu dienen.

Diese beiden Arbeiten waren grundlegend für den weiteren Ausbau der Knöllchenbakterienfrage und bestätigten vollauf die Ansichten und Erfahrungen Hellriegels.

Innerhalb zweier Jahrzehnte hat nun diese Frage eine derartig umfangreiche Literatur gezeitigt, daß es den Rahmen dieser Arbeit weit überschreitet, auch nur annähernd alle diesbezüglichen Untersuchungen berücksichtigen zu können.

Es mag daher genügen, wenn in vorstehender Tabelle eine Anzahl der bekannt gewordenen Arbeiten geordnet gegenübergestellt werden, um daran zu zeigen, daß die Ergebnisse der einzelnen Forscher bislang zu keineswegs einheitlichen Auffassungen geführt haben und in manchen Einzelfragen noch recht der Aufklärung bedürftig sind.

Schließen sich die in der Tabelle angeführten Arbeiten neben Berichtigungen, Ergänzungen und kleineren Abweichungen in ihren Grundzügen den Resultaten Beijerincks und Prazmowskis an, so hat es

Beweglichkeit	Färbbarkeit	Sporenbildung	Wachstumsbedingungen	Bemerkungen
			Min. lang auf 50° erwärmt werden, nicht aber auf 55°	
lebhaft beweglich, Geißeln konnten nicht zur Anschauung gebracht werden	—	nicht beobachtet	kann auch aërob gedeihen	

auch nicht an Forschern gefehlt, die sich durch verunreinigende Begleitbakterien (auf die schon Beijerinck, später Simon, Hiltner hinwiesen) täuschen ließen, diese rein züchteten und für die eigentlichen Knöllchenbakterien ansprachen.

So isolierte Frank, der wiederum, wie früher, eine Sonderstellung einnahm, aus den Knöllchen einen Mikrokokkus, *Rhizobium leguminosarum* von ihm genannt; die Kolonien auf Leguminosengelatine erreichten einen Durchmesser bis 1 cm, waren teilweise rosettenförmig ausgebreitet, blaßgelb bis dottergelb gefärbt und verflüssigten mehr oder weniger langsam die Gelatine.

Nach ihm kam die Knöllchenbildung in der Weise zustande, daß der Mikrokokkus durch einen von der Pflanze aus plasmatischer Substanz gebildeten Infektionsfaden eingefangen und nach dem Orte der Bestimmung gebracht wurde. Aber nicht nur in den Knöllchen, sondern auch in den oberirdischen Organen wollte er den Mikroben gefunden haben, eine Annahme, die durch die Untersuchungen Zinssers widerlegt worden ist.

Bacterium und Bakteroid waren nach Frank zwei verschiedenartige Gebilde, während ersteres ein fremder Organismus war, stellte letzteres nur ein Produkt der Pflanze, ein Eiweißklümpchen dar.

Infolge ganz mangelhafter bakteriologischer Technik züchtete Gonnemann aus faulenden Knöllchen nicht weniger denn zehn verschiedene Organismen, teils Kokken, teils Stäbchen mit allen möglichen Eigenschaften, darunter aber niemals den typischen Knöllchenerreger.

Er folgerte aus seinen Untersuchungen, daß den verschiedensten Bakterien die Eigenschaft zukäme, Knöllchen an den Leguminosenwurzeln zu bilden, und daß jeder Bodenart andere Bakterien zur Hervorbringung der Knöllchen zur Verfügung ständen.

Bakteroiden sind nach ihm nur Eigentümlichkeiten der Bakterien während der Vegetation im Pflanzenkörper, die sich außerhalb in künstlichen Kulturen nicht bilden, analog etwa der Erscheinung, daß z. B. Pneumokokken die im Tierkörper vorhandene charakteristische Kapsel auf künstlichen Nährsubstraten nicht hervorbringen.

Endlich züchtete Rodella aus den Knöllchen regelmäßig ein dem *Clostridium Pastorianum* W. ähnliches Anaërobium, welches er mit seinem aus dem Säuglingsstuhl isolierten Anaërobium II identifizierte und welches die N-Bindung in den Knöllchen bewirken sollte, wie jenes im Säuglingsdarme.

Eigene Untersuchungen.

Isolation der Knöllchenbakterien.

Zur Untersuchung wurden herangezogen die Knöllchen von *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Trifolium pratense* und *Phaseolus vulgaris*.

Verwendet wurden teils in Töpfen selbstgezüchtete, teils dem Ackerboden entnommene Pflanzen in verschiedenen Altersstadien.

Mittels einer Pinzette wurden die Knöllchen möglichst ohne Verletzungen von den Wurzeln entfernt und in einem Reagensglase verschiedene Male mit Leitungswasser durchgeschüttelt, bis das Waschwasser durch Erdpartikelchen nicht mehr getrübt erschien. Das Leitungswasser wurde nun durch sterilisiertes ersetzt und öfters erneuert. Die auf diese Weise von fremden Keimen möglichst befreiten Knöllchen wurden weiter mit Alkohol, zuletzt mit Äther behandelt.

Alle Arbeiten wurden mit peinlichster Sauberkeit ausgeführt und alle verwendeten Gläser, Lösungen und Pinzetten usw. waren vorher durch Dampf sorgfältig sterilisiert worden.

Ein so behandeltes Knöllchen wurde mit einer Pinzette erfaßt, vermittels einer zweiten zerrissen, dann von dem an der Rißstelle austretenden Knöllcheninhalt eine Platinöse voll entnommen und sorgfältig mit einem cem Kochsalzlösung verdünnt.

Von dieser Verdünnung wurden hergestellt

- 1) Deckglaspräparate und
- 2) Aussaaten (in Petrischalen und auf schrägerstarre Gelatine- und Agarröhrchen).

Nährböden.

Zur Gewinnung der Kulturen dienten zuerst als Nährböden teils Pflanzen-, teils Samenauszüge verschiedener Leguminosen in verschiedenen Konzentrationen, die mit Agar oder Gelatine unter Zusatz von Traubenzucker in feste Nährsubstrate verwandelt worden waren; eine Beigabe von Asparagin (wie sie zuerst Beijerinck angewendet) hatte weder einen wachstumsfördernden noch -hemmenden Einfluß und wurde nur anfänglich benutzt.

Bei den Versuchen stellte es sich auch heraus, daß es gleichgültig war, welcher Art die verarbeiteten Leguminosenpflanzen resp. -samen waren, daß man für den Organismus der KleeKnöllchen mit gleichem Erfolge Erbsen-, Bohnen- oder Kleepflanzensamen verwenden konnte.

Um immer mit möglichst gleichmäßig zusammengesetzten Nährsubstraten arbeiten zu können, wurden ähnlich den Fluidextrakten Heißwasserextrakte der betreffenden Pflanzenteile hergestellt.

So wurden z. B. 1 kg kurzgepflückte Kleepflanzen, nachdem sie vermittels einer Zerkleinerungsmaschine zu einem feinen Brei zerquetscht waren, nach und nach mit heißem Wasser ausgezogen, so daß schließlich 10 Liter Flüssigkeit resultierten.

Das nach dem Erkalten filtrierte Dekokt wurde auf ca. 900 cem eingedampft, mit $\frac{n}{1}$ NaOH abgestumpft bezw. neutralisiert und auf 1 Liter aufgefüllt.

Dieses konzentrierte Extrakt wurde in kleine Flaschen gefüllt und im Dampfstrom sterilisiert; es stellte eine klare, dunkelbraune Flüssigkeit dar, von der ein Teil einem Teile frischen Krautes entsprach.

Die Herstellung eines Liters gewöhnlichen Leguminosenagars gestaltete sich dann folgendermaßen:

Stangenagar 30,0 (resp. Gelatine 150,0) wurden zu 800 ccm Wassers gegeben und bis zur Lösung gekocht; war diese eingetreten, so wurden 20,0 Traubenzucker und 50 ccm Pflanzenauszug zugesetzt, die Reaktion richtig gestellt und auf 1 Liter aufgefüllt.

Zur Reaktionseinstellung wurden 10 ccm fertigen Nährbodens mit 100 ccm Wassers verdünnt, mit $\frac{n}{50}$ NaOH bis zur Phenolphthaleinrötung titriert und aus dem gefundenen Werte die zur Neutralisation eines Liters notwendige Menge $\frac{n}{1}$ NaOH berechnet.

Das neutralisierte Nährsubstrat wurde verwendet:

- 1) als solches = neutraler Nährboden,
- 2) mit 10 ccm $\frac{n}{1}$ Äpfel-, Wein- oder Zitronensäure pro Liter versetzt = saurer Nährboden, und
- 3) mit 10 ccm $\frac{n}{1}$ NaOH = alkalischer Nährboden.

Das Wachstum¹ der Knöllchenbakterien war unabhängig von der Reaktion des Nährsubstrates, so daß Schwankungen der Reaktion innerhalb gewisser Grenzen keinerlei Einfluß ausübten.

Als für alle Zwecke geeignet wurde, wenn nichts anderes bemerkt, saurer Nährboden benutzt.

Später, als frisches Kraut resp. aus diesem hergestellter wässriger Extrakt nicht mehr zur Verfügung stand, hat sich auch folgender Nährboden vorzüglich bewährt und ausgedehnteste Anwendung gefunden:

100 g gepulverter Leguminosensamen wurden mit 100 ccm $\frac{n}{1}$ KOH im Mörser angerieben und nach Zusatz von 5 Liter Wasser 24 Stunden stehen gelassen; die über den Bodensatz stehende klare Flüssigkeit wurde dann abgehebert, mit Phosphorsäure neutralisiert und wieder mit Wasser auf 5 Liter gebracht. Ein Liter dieser, Leguminoseneiweiß und phosphorsaures Kali enthaltenden Flüssigkeit ergaben mit 30 g Agar und 20 g Traubenzucker versetzt und mit 10 ccm $\frac{n}{1}$ Äpfelsäure angesäuert einen für alle Zwecke brauchbaren Nährboden.

Wachstum der Knöllchenbakterien.

Nach Aussaat des in obiger Weise gewonnenen Knöllcheninhaltes treten nach 4—5—6 Tagen auf den Platten resp. Röhrchen kleine helle Pünktchen auf, die weiterhin zu feuchtglänzenden, halbkugelig gewölbten, tropfenähnlichen, wenig charakteristischen Kolonien heranwachsen und schleimige Konsistenz zeigen.

Die Größe und Farbe der Kolonien schwankt naturgemäß je nach Anzahl der auf der Platte vorhandenen Keime und je nach Beschaffenheit des Nährbodens, und zwar besitzen die Kolonien auf Gelatine rein porzellanweiße Farbe, während Agar sie mehr weißlichgrau erscheinen läßt.

Ab und zu finden sich neben diesen kleinen typischen, langsam wachsenden, die Gelatine nicht verflüssigenden Formen auch größere, schneller wachsende Kolonien von weißlicher bis gelblicher Farbe mit mehr oder minder großem Peptonisierungsvermögen; es handelt sich hierbei um verunreinigende Begleitbakterien, eine Erscheinung, auf die schon Beijerinck u. a. aufmerksam gemacht haben, und die nur beobachtet wird, wenn der Knöllcheninhalt nicht vollkommen steril entnommen wurde.

Hatte man aber unter vollkommen antiseptischen Kautelen gearbeitet,

so konnte das Plattenverfahren umgangen und direkt auf Schrägröhrchen geimpft werden.

Wurde nun von einer typischen Kolonie eine Aufschwemmung in etwas steriles Wasser gemacht und davon eine Öse auf schrägerstarrte Gelatine- oder Agarröhrchen weitergeimpft, so entwickelten sich nach 2—3 mal 24 Stunden kleine, halbkugelig erhabene glänzende Kolonien ohne irgendwelches charakteristische Gepräge.

Von Tag zu Tag wurden die Kolonien größer und schleimiger, liefen ineinander über, so daß schließlich das ganze Röhrchen gleichmäßig mit einem fast glasig-weißen bis opakgrauen zähen Schleimrasen überzogen war.

Infolge seiner Schwere sank der Schleim nach und nach in die tiefer gelegenen Partien und sammelte sich im Reagensglasboden an, auf der oberen Fläche einen dünnen, hauchartigen, wässerig-durchsichtigen Belag zurücklassend.

Der zu Boden gesunkene Schleim fiel allmählich flockig aus und verlor seine fadenziehend-schleimige Beschaffenheit.

F ä r b b a r k e i t.

Die Knöllchenbakterien stellen Kurzstäbchen dar, die an beiden Enden leicht abgerundet sind und einzeln, ohne besondere Gruppierung liegen. Sie nehmen die gebräuchlichen basischen Anilinfarben verhältnismäßig gut an, besonders empfänglich sind sie Karbolfuchsin gegenüber.

Bei Anwendung der Gramschen Färbemethode werden sowohl die Stäbchen wie die Bakteroiden immer und gleichmäßig entfärbt.

H a r r i s o n erwähnt in seiner Arbeit, daß die Bakteroiden grampositiv sind, sobald man an Stelle des Äthylalkohols Amylalkohol als Entfärbungsmittel anwendet, ein Versuchsergebnis, das sich durch Nachprüfungen in keiner Weise bestätigen ließ.

Da die Stäbchen (Z i n s s e r) und die Bakteroiden (M o r k) verdünnten Säuren gegenüber sich als recht widerstandsfähig erweisen sollen, wurden sie auch nach der Methode der säurefesten Bazillen gefärbt, und dabei zeigte es sich, daß die Bazillen und Bakteroiden wohl nicht säurefest im Sinne der Tuberkelbazillen waren, daß sie aber immerhin der Entfärbung durch Säuren bedeutend mehr Widerstand entgegensetzen, als die große Mehrzahl der gewöhnlichen Bazillen.

Erhitzt man ein fixiertes Präparat mit Karbolfuchsin über der Flamme, bis die Farbflüssigkeit Dämpfe ausstößt (ca. 1—2 Minuten) und bringt es dann nach kurzem Abspülen mit Wasser 2—5 Sekunden lang in 5-proz. Schwefelsäure, so ist wohl ein Teil der Organismen entfärbt, die Hauptmenge aber erscheint unter dem Mikroskop betrachtet noch deutlich rosa gefärbt; speziell die Plasmakügelchen leisten der Entfärbung durch die Säure recht erheblichen Widerstand. Ein längeres Verweilen (10—20 Sekunden) in der Säure läßt die Farbe vollkommen verschwinden.

Auch gegen die Entfärbung mit Alkohol zeigen sich die Ausstriche recht widerstandsfähig; sogar ein mehr denn 30 Minuten lang andauerndes Einwirken des Alkohols ist nicht imstande, die Bakterien resp. die Bakteroiden vollkommen zu entfärben.

Schön und deutlich lassen sich die an den Enden der einzelnen Bakteroidenäste liegenden Plasmakügelchen nach der von L o e f f l e r angegebenen Diphtheriekörnchen-Färbemethode darstellen.

Das bakteroidenhaltige Material wird ganz dünn auf Deckgläschen aus-

gestrichen, und nachdem es lufttrocken geworden ist, zwecks Fixage dreimal durch die Flamme gezogen oder aber ein paar Minuten lang mit Alkohol-äther behandelt.

Die Deckglaspräparate werden nun 10 Sekunden lang in der Kälte vorgefärbt mit Loefflerscher Methylenblau-Eosinmischung, bestehend aus

Borax (2,5 %)	Methylenblau (1 %)	4 Teile
Polychromo	Methylenblau	1 Teil
Eosin extra A. G. (0,05 %)		5 Teile

sodann mit Wasser gut abgespült und wiederum 10 Sekunden lang ent- und gegengefärbt mit einer Lösung von

Tropaeolin OO	0,1
Bismarkbraun	1,0
Essigsäure (0,5 %)	500,0
Alkohol	500,0

Die Bakterienleiber erscheinen ganz schwach gelblich angedeutet, während die Plasmakügelchen schön dunkelbraun bis schwarzbraun gefärbt sind.

Um gut gefärbte Präparate zu erhalten, muß man bei beiden Operationen die angegebene Zeit genau einhalten.

Beweglichkeit, Geißelfrage.

Betreffs der Beweglichkeit der Knöllchenbakterien sind die verschiedenartigsten Ansichten laut geworden. Zahlreiche Forscher haben sich mit dieser Frage eingehend beschäftigt. Indes zu einheitlichen Anschauungen ist man noch nicht gelangt, und so finden sich denn in der Literatur alle möglichen Ansichten vertreten.

Beträchtlichen technischen Schwierigkeiten begegnet die Geißeldarstellung allerdings wegen der schleimigen Beschaffenheit der Kolonien, einwandfreie Untersuchungen sind daher nicht allzu leicht auszuführen.

Während ein großer Teil der Forscher (Laurent, Kirchner, Stefan, Kellermann) dem Bacillus Beweglichkeit abspricht, rechnen ihn andere wieder zu den beweglichen Organismen (Beijerinck, Prazmowski, Zinsser, Löhnis.)

Nach eingehenden Versuchen kommt Harrison zu dem Resultate, daß es sich um einen monotrichen Organismus handelt, eine Ansicht, die auch Jensen vertritt.

Harrison gibt auch eine spezielle Färbemethode an, nach welcher man die einzige polare Geißel recht gut zur Darstellung zu bringen imstande sei: Auf reinem Objektträger solle man eine Öse klebriger Kultur in langen Zügen ausstreichen und lufttrocken werden lassen, sodann ohne Fixage das Präparat mit einer konzentrierten alkoholischen Lösung einer gebräuchlichen Anilinfarbe behandeln; hierbei solle der Schleim tiefgefärbt, der Bacillus farblos erscheinen, gleich einem photographischen Negativ; auch die einzige polare Geißel solle die Färbung nicht annehmen, sondern, vornehmlich an dünnen Stellen, deutlich als klarer ungefärbter Streifen aus dem gefärbten Schleime hervortreten.

Kellermann aber bestreitet entschieden diese Befunde; wenn er sicher atriche Bazillen mit Schleim- oder Gummilösung vermischt und nach der von Harrison angegebenen Methode behandelte, konnte er in jedem Falle die geißelartigen Gebilde (Riesenpeitschen) zur Anschauung bringen.

Zu wieder anderen Resultaten kamen Maassen und Müller, die den Knöllchenorganismus für lophotrich ansehen; das lebhaft bewegliche

Stäbchen — die Beweglichkeit wird dem Tanze eines Mückenschwarmes verglichen — besitzt nach ihren Untersuchungen an einem Pole feine, sehr lange wellige Geißeln, meist vier an der Zahl, nicht selten zu einem langen Zopf verflochten.

R o s s i endlich tritt dafür ein, daß man es hier mit einem typisch peritrichen Organismus zu tun habe mit zehn und mehr Geißeln, eine Anschauung, die auch L ö h n i s vertritt; während aber letzterem nicht gelungen ist, einwandfreie Geißelpräparate zu erzielen, bringt R o s s i in seiner Arbeit eine recht gute photographische Wiedergabe eines deutlich peritriche Geißeln darbietenden Präparates.

Eigne Untersuchungen: Macht man sich eine ganz dünne Knöllchenbakterienaufschwemmung und beobachtet sie im hängenden Tropfen, so sieht man teils träge sich hinwälzende Stäbchen, teils bemerkt man solche, die lebhaft beweglich sind und quer durchs Gesichtsfeld schießen; weiterhin werden auch Stäbchen sichtbar, die eine purzelnde, radschlagende Bewegung zeigen.

Bei den Versuchen, die Geißeln färberisch darzustellen, stößt man infolge der schleimigen Beschaffenheit der Kolonien auf einige Schwierigkeiten, und es gehört immerhin eine gewisse Übung dazu, einigermaßen brauchbare Präparate zu erzielen; die ausgestrichenen Präparate wurden nach der von L o e f f l e r angegebenen Methode (Beizen mit Eisentannatlösung und nachfolgender Färbung mit Karbolfuchsin in Schwebefällung) behandelt. Unter den zahlreichen angefertigten Präparaten ließen die wirklich einwandfreien den Bacillus als einen typisch peritrichen erkennen.

Die zahlreichen Geißeln sitzen um den ganzen Bacillus herum.

W a c h s t u m a u f K a r t o f f e l n .

Aus Kartoffeln, die mit Bürste und Sublimatlösung gründlich gereinigt waren, wurden mittels eines weiten Korkbohrers zylinderförmige Stücke herausgestochen, diese durch einen diagonal geführten Schnitt halbiert und dann in Reagensröhrchen gebracht, die etwa 1 ccm oberhalb des Bodens eine Einkerbung besaßen, auf der der Zylinder ruhte.

Diese Röhrchen wurden im Autoklaven auf 135° erhitzt und darauf in demselben erkalten gelassen.

Die ausgesäten Mikroorganismen erscheinen auf den Kartoffeln als farblos schleimiger Belag. Infolge seiner Schwere sank der Schleim bald nach unten und sammelte sich in dem kugelförmigen Reagensglasboden an. Betrachtet man alsdann die Kartoffelkeile, so bieten sie ein mattfeuchtes Aussehen dar; irgendwelche Verfärbung trat nicht auf; auch nicht in monatelangen Kulturen.

Im ausgefärbten Präparat sah man nur die bekannten Kurzstäbchenformen.

W a c h s t u m i n M i l c h .

Magermilch, zu je 10 ccm in Reagensröhrchen verteilt, wurde drei Tage hintereinander je 15 Minuten im Dampfstrom sterilisiert und mit allen vier Bakterienarten beschickt und sowohl bei 20° wie bei 37° bebrütet.

Nach Verlauf von etwa 6—8 Tagen war in den Röhrchen die Milch zur Gerinnung gebracht, und über dem feinflockigen Milchkoagulum sammelte sich das Serum als eine vollkommen klare, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit an. Es zeigte sich, daß die Wärme die Koagulation begünstigte, denn in den bei 37° gehaltenen Röhrchen trat die Erscheinung schon nach ca.

4 Tagen ein, außerdem war die über der Kaseinmasse stehende Flüssigkeitsmenge etwa doppelt so groß wie in den bei 20° gehaltenen Röhrchen.

Das überstehende Serum hatte deutlich saure Reaktion.

Die Kontrollröhrchen waren in beiden Fällen auch nach dreiwöchentlicher Beobachtungszeit vollkommen unverändert geblieben.

Indolbildung.

Nach den Untersuchungen von K e l l e r m a n n und B e c k w i t h besitzen Knöllchenbakterien nicht die Fähigkeit, Indol zu bilden, das Eiweißmolekül also abzubauen.

Nach den im Laufe der Jahre gemachten Erfahrungen hat die Zusammensetzung des verwendeten Nährbodens einen nicht unwesentlichen Einfluß auf den Ausfall der Reaktion. Vor allem muß natives Eiweiß oder Pepton zugegen sein, während andererseits die Anwesenheit größerer Zuckermengen infolge Säurebildung durchaus störend einwirkt. Bei der Anstellung der Versuche wurde diesen Voraussetzungen gebührenderweise Rechnung getragen; die dazu verwendeten Nährlösungen setzten sich folgendermaßen zusammen:

Lösung I		Lösung II	
Leguminosenauszug	25 ccm	Leitungswasser	500 ccm
konzentr. 1 : 1			
Traubenzucker	0,5 g	Traubenzucker	0,5 g
Pepton	2 g	Pepton	2 g
Wasser	500 ccm.		

Zu je 10 ccm dieser sterilisierten Nährlösungen wurden 0,5 ccm einer Knöllchenbakterienaufschwemmung zugegeben und sowohl bei 20° wie bei 37° bebrütet.

Nach 24 Stunden und nach 48 Stunden wurden die Röhrchen in bekannter Weise zwecks Prüfung auf gebildetes Indol mit je 1 ccm einer 0,02-proz. KNO_2 -Lösung und 1 ccm Schwefelsäure (1 : 3 verdünnt) versetzt.

Die Röhrchen mit Lösung I färbten sich nach Zusatz der Reagentien intensiv gelb, während die Röhrchen mit Lösung II die Andeutung eines schwachen Rosatones zeigten, der sich aber auch bei den Kontrollröhrchen in gleicher Stärke bemerkbar machte, so daß die Reaktion einwandfrei nicht beurteilt werden konnte.

Es wurde deshalb zur endgültigen Entscheidung die von Ehrlich angegebene und von B o e h m e modifizierte Indolreaktion herangezogen, da diese Zufälligkeiten ausschließt und wohl beweiskräftiger ist als die Schwefelsäurenitritreaktion.

Zu je 10 ccm bebrüteter Nährlösung wurden nach gewissen Zeiträumen (nach 12, 24, 48 Stunden, auch später nach 4, 5 und 6 Tagen)

5 ccm Lösung A:	p. Dimethylamidobenzaldehyd	1,0
	Alkohol 96-proz.	95 ccm
	und Salzsäure	20 ccm
5 ccm Lösung B:	Kaliumpersulfat in gesättigter wässriger Lösung	

zugegeben und die Röhrchen durchgeschüttelt. Die Röhrchen blieben unverändert; ebenso zeigten die Kontrollröhrchen keinerlei Verfärbung. Die Reaktion war also negativ.

Veränderungen des Nährsubstrates.

a) Zersetzung von Kohlehydraten.

Bei diesen Versuchen kamen folgende beiden Nährlösungen zur Anwendung:

- I. Leguminosenauszug mit 2 Proz. Traubenzucker,
- II. „ „ mit 2 Proz. Milhzucker.

Die Nährlösungen wurden neutralisiert und an drei aufeinander folgenden Tagen je 15 Min. sterilisiert, um eine tiefergehende Zersetzung des Zuckermolekül zu verhindern. Nachdem nach dem Erkalten die Reaktion nochmals geprüft, resp. richtig gestellt worden war, wurden die Nährlösungen mit steriler neutraler Lakmus-Lösung (Kahlbaum) versetzt, daß sie deutliche Violettfärbung zeigten, zu je 10 ccm in Röhrchen gefüllt und mit je 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung beschickt.

Die Bebrütung erfolgte sowohl bei 18° wie 37°. Die anfangs vollkommen klaren Röhrchen fingen nach und nach an sich zu trüben, ohne sich indes zu verfärben; erst nach etwa 6—8 Tagen in den bei 37° gehaltenen, nach etwa 10—12 Tagen in den bei 18° gehaltenen Röhrchen schlug der violette Farbton in ein ganz schwaches Rot um, das aber im Gegensatz zu den unverändert gebliebenen Kontrollröhrchen deutlich als solches erkannt werden konnte.

Nach Verlauf von etwa einem Monate waren die Röhrchen vollkommen rot gefärbt und klar geworden, während ein flockiger Bodensatz ausgefallen war. Die Kontrollröhrchen zeigten auch nach dieser Zeit ihren unveränderten ursprünglichen violetten Farbton.

b) Reduktionsvermögen Farbstoffen gegenüber.

Zur Feststellung des Reduktionsvermögen wurden als Nährsubstrate gewöhnliche Leguminosenabkochung, -gelatine und -agar benutzt; als Indikatoren dienten Methylenblau und selenigsaures Natrium.

Die Reaktion beruht bekanntlich bei Methylenblau darauf, daß es als organischer Farbstoff zum farblosen Leukoprodukte reduziert, der blaue Nährboden also entfärbt wird; bei Verwendung des selenigsauren Natrons erfährt das an und für sich farblose Salz eine Reduktion zu ziegelrotem metallischen Selen.

Auch Nährböden mit 1 ‰ indigodisulfonsaurem Natrium wurden benutzt; die blaufärbten Röhrchen wurden in kurzer Zeit vollkommen entfärbt; freilich ist gerade dieser Farbstoff, der sich bekanntlich in der Praxis einer großen Beliebtheit erfreut, zu derartigen Versuchen recht ungeeignet, da eine Entfärbung desselben sowohl durch Reduktion wie durch Oxydation eintreten kann.

Um also bei den Reduktionsversuchen unzweideutige Resultate zu erzielen, muß man von vornherein verschiedene Fehlerquellen, die positiven Ausfall vortäuschen können, ausschalten; da schon der Nährboden als solcher reduzierend wirken kann, und wiederum Agar stärker als Gelatine, so müssen vergleichshalber beide Nährböden nebeneinander geprüft werden; ferner muß dafür Sorge getragen werden, daß man den Luftzutritt möglichst einschränkt, da die reduzierte Leukobase durch Aufnahme von Sauerstoff wieder verköpft, d. h. zum ursprünglichen Farbstoff regeneriert werden kann.

Zu je 10 ccm sterilen, flüssig gemachten Nährsubstrates wurden zugesetzt:
einer Serie Röhrchen A: 0,5 ccm steriler Methylenblaulösung (1 : 5000)
einer Serie Röhrchen B: 0,5 ccm steriler Na selenos.-lösung (1 : 500).

Die Röhrchen der Serie B wurden ohne weiteres in Benutzung genommen, ebenso ein Teil der Röhrchen von Serie A, während ein anderer Teil derselben nach der Beimpfung mit keimfrei gemachtem, flüssigem Paraffin (*Paraffinum liquidum*) überschichtet wurde.

In gleicher Weise wurden auch die Leguminosenbouillon enthaltenden Röhrchen vorbereitet = Serie C.

Die Röhrchen der Serien A. und C wurden langsam entfärbt, indem langsam die Farbe von untenher verblaßte; es zeigte sich kein Unterschied der Intensivität der Entfärbung bei den bei verschiedenen Wärmegraden gehaltenen Röhrchen, ebenso war ein verschiedenes Verhalten der mit Paraffin überschichteten Röhrchen im Gegensatz zu den Röhrchen, die ungehindert Luftzutritt hatten, nicht zu beobachten.

Auf den mit Na selenosum versetzten Röhrchen war in den ersten 10 Tagen überhaupt kein Wachstum zu sehen, so daß es den Anschein gewann, als ob die selenige Säure wachstumshemmend wirkte. Nach etwa 12 Tagen aber wurden überall verstreut kleine ziegelrote Pünktchen bemerkbar, die dann ganz langsam zu schleimigen großen roten Tropfen heranwuchsen.

Bei den Kontrollröhrchen war auch nach 4-wöchentlicher Beobachtungsdauer keinerlei Farbennüancierung resp. Entfärbung eingetreten; ebenso zeigten die Na selenosum-Röhrchen keinerlei Veränderungen.

Einwirkung auf salpetersaure Salze.

Während den Knöllchenbakterien von Kellermann und Beckwith die Fähigkeit, Nitrate abzubauen abgesprochen wird, sind sie nach Jensen sehr wohl imstande, Nitrate zu Nitriten, ja teilweise sogar zu Ammoniak zu reduzieren.

Zwecks Klärung dieser Meinungsverschiedenheiten wurden diesbezügliche Untersuchungen angestellt, und zwar mit folgenden Nährlösungen:

- | | |
|------------------------------|---------|
| I. Samennährlösung | 1 Liter |
| (s. Bereitung der Nährböden) | |
| Salpeter | 0,2 g |
| II. Leitungswasser | 1 Liter |
| Mannit | 5,0 |
| Salpeter | 0,2 g |
| III. Leitungswasser | 1 Liter |
| Traubenzucker | 10,0 g |
| Salpeter | 0,2 g. |

Je 10 ccm der einzelnen Nährlösungen wurden in Reagensröhrchen gefüllt, sterilisiert und mit je 0,5 ccm einer Aufschwemmung von Knöllchenbakterien (verwendet wurden alle 4 gezüchteten Arten) in sterilem Leitungswasser beschickt.

Auf Grund der Erfahrungen, die verschiedene Forscher (u. a. Dieudonné) mit anderen Bakterien bei der Bearbeitung dieser Fragen gemacht hatten, wurden die Nährlösungen leicht alkalisch gemacht und teils bei 18° (Serie A), teils bei 37° (Serie B) bebrütet, da alkalische Reaktion und Wärme den Reduktionsprozeß beschleunigen sollten.

Als Reagens auf salpetrige Säure diente das von Lunge modifizierte Griesssche Sulfanilsäure-Naphthylamin-Gemisch bestehend aus

Lösung I:

Sulfanilsäure 0,5 gelöst in 100 ccm 30-proz. Essigsäure.

Lösung II:

α -Naphthylamin 0,1 gelöst in 100 ccm 30-proz. Essigsäure.

Beide Lösungen wurden jedesmal kurz vor dem Gebrauche zu gleichen

Teilen gemischt. Getrennt halten sich die Lösungen besser; direkt bei der Anfertigung gemischt, wie es die eigentliche Vorschrift angibt, nimmt das Reagens trotz lichtgeschützter Aufbewahrung nach kurzer Zeit eine rötliche Farbe an und wird unbrauchbar.

Zur Prüfung auf gebildetes Nitrit wurden zu den Röhren je 1 ccm gemischtes Reagens zugegeben und leicht erwärmt.

R e s u l t a t e :

nach 4stündiger Bebrütung:

Weder in den Kontrollröhren noch in denen der Serie A und B trat eine Farbenänderung ein.

Nach 8stündiger Bebrütung:

Auf Zusatz des Reagens blieben die Kontrollröhren, ebenso die der Serie A unverändert.

Die Röhren der Serie B färbten sich leicht hellrot.

Nach 24stündiger Bebrütung:

Die Kontrollröhren blieben unverändert, während Serie A bei der Prüfung eine hellrote Färbung zeigte, etwa die Nuance der Serie B nach 8 Stunden und die nach Verlauf von einer Minute ihren Höhepunkt erreicht hatte, färbten sich die Röhren der Serie B unmittelbar nach dem Zusatz des Reagens intensiv bordeauxrot, welcher Farbton von den Röhren der Serie A auch nach 48stündiger Bebrütung nicht vollkommen erreicht wurde.

Die weitere Frage, ob den einzelnen Arten ein mehr oder minder großes Reduktionsvermögen innewohnt, war schwer zu entscheiden; machten sich auch bei der Beobachtung der einzelnen Röhren kleine Farbintensitätsunterschiede bemerkbar, so ließ dies doch allein nicht sichere Rückschlüsse auf die Stärke der Reduktionskraft zu, weil bei verschiedenen Versuchen die gleiche Bakterienart auch kleine Farbunterschiede zeigte.

Parallel mit der Prüfung auf Nitrite wurde eine solche auch auf Salpetersäure ausgeführt, und zwar nach der von W i n k l e r angegebenen Brucin-Methode, die gestattet, auch bei Gegenwart von Nitriten nur auf Nitrate zu prüfen, indem zu ca. 3 ccm konzentrierter Schwefelsäure tropfenweise ca. 1 ccm der bebrüteten Nährlösung zugesetzt wurde; in der vollkommen abgekühlten Mischung wurden dann jedesmal Spuren von Brucin gelöst.

Da Brucin auch mit salpetriger Säure reagiert, muß diese unschädlich gemacht werden; dies erreicht man eben durch Zusatz von Schwefelsäure im Überschuß; es wird dann die vorhandene HNO_2 in Nitrosulfonsäure übergeführt und diese reagiert mit Brucin nicht mehr.

Nach Zusatz von Brucin färbten sich die Kontrollröhren und die 4-stündig bebrüteten kirschrot, und dann in orange, um nach längerer Zeit in schwefelgelb überzugehen; die 8-stündig bebrüteten Röhren der Serie B zeigten nur noch eine rosenrote Färbung, die weiterhin in blaßgelb umschlug, ein Zeichen, daß sich die Konzentration der Salpeterlösung verändert hatte; wurden dann die 24stündigen Kulturen der Serie B mit dem Reagens behandelt, so erschienen sie nur noch blaßrot, um nach einiger Zeit fast farblos zu werden. Der Salpeter war also bis auf Spuren abgebaut worden.

Um weiter zu erfahren, ob die Knöllchenbakterien die Fähigkeit besaßen, den Salpeter über die salpetrige Säure zu Ammoniak abzubauen, wurden Röhren der Serie A und B, ebenso Kontrollröhren nach ver-

schiedenen Zeiten mit je 0,5 ccm Neßlerschem Reagens (Doppelverbindung von Jodquecksilber und Jodkalium in Kalilauge) versetzt und beobachtet.

Bei Gegenwart von Spuren von NH_3 gibt das an und für sich fast farblose Reagens eine gelbe Färbung von Ammoniumquecksilberoxyjodid.

Es sei hierbei noch bemerkt, daß die zu diesen Versuchen benutzten Nährlösungen mit Kohle vollkommen entfärbt waren.

Weder 8- noch 24stündige, noch mehrtägige Kulturen zeigten Gelbfärbung; Ammoniak konnte also nicht nachgewiesen werden.

Temperatureinfluß auf das Wachstum der Knöllchenbakterien.

Bezüglich der für die Entwicklung der Knöllchenbakterien günstigsten Temperatur herrschen bei den einzelnen Forschern keine übereinstimmenden Ansichten; während Beijerinck Zimmertemperatur als Optimum angibt, gedeihen nach Laurent die Bakterien bei 22—26° am besten, nach Rossi bei 25—30°.

Auch hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit höheren oder niederen Wärmegraden gegenüber sind die Meinungen recht geteilt.

Nach Rossi hört bei 0°—1° jegliches Wachstum auf, erst bei 4°—6° ist der Organismus langsam entwicklungsfähig; Beijerinck sah dagegen die Bakterien noch bei 0° gedeihen; weiterhin beobachtete Rossi, daß bei 37° das Wachstum sistierte, während Beijerinck erst bei 47° negative Wachstumsresultate erzielte; im Gegensatz dazu fand Laurent als obere Wachstumsgrenze 30°, Mazé 35°.

Ein Erhitzen auf 60—70° tötet nach Beijerinck, Hiltner den Mikroben; nach Prazmowski wird er erst nach einer 3—5 Minuten langen Einwirkung einer Temperatur von 75° entwicklungsunfähig gemacht; Rossi wieder fand bei seinen Versuchen, daß ein 10 Min. andauerndes Erhitzen auf 47° genüge, um die Bazillen ihrer Infektionstüchtigkeit zu berauben.

Bei den eignen Versuchen stellte es sich heraus, daß bei einer Temperatur von 15—20° vorzügliches Wachstum und üppige Schleimbildung statthatte.

Wurden die Röhrchen in einem Raume gehalten, der eine durchschnittliche Temperatur von 8—10° hatte, so gediehen die Bakterien leidlich, freilich vergingen 6—8 Tage, ehe deutlich makroskopisch sichtbares Wachstum eintrat; nach und nach bildete sich auch ein Schleimrasen.

Bei einer Temperatur von 3—6° entwickelten sich die Organismen ganz kümmerlich, während die unterhalb dieser Temperatur gehaltenen Röhrchen keinerlei Wachstumserscheinungen mehr darboten.

Wurden die Röhrchen im 37°-Brutschrank bebrütet, so sistierte das Wachstum keineswegs; es hatte sich nur etwas verlangsamt und nach Verlauf von etwa 8 Tagen waren die Röhrchen ebenso kräftig entwickelt und schleimig, wie die bei 15—18° bebrüteten nach etwa 4 Tagen.

Um die Widerstandsfähigkeit gegen höhere Wärmegrade auszuprobieren wurde einerseits eine konzentrierte Bakterienaufschwemmung (Serie A) fünf Minuten lang einer Temperatur von 45°, 50°, 55° und 60° ausgesetzt und dann weiter verimpft; andererseits wurden üppig entwickelte Kulturen (Serie B) von etwa 5—6 Tagen kürzere oder längere Zeit im Thermostaten bei 45°, 50 und 55° gehalten, dann ebenfalls weiterverimpft und bei 18° bebrütet.

Dabei zeigte es sich, daß Kulturen, die 24 Stunden bei 45° gestanden

hatten, weiterverimpft, bei 18° wieder angingen; nicht mehr aber solche, die 24 Stunden einer Temperatur von 50° ausgesetzt gewesen; frisch besäte Röhrchen im 45° und 50°-Thermostaten bebrütet, blieben steril.

Ein 5 Minuten lang andauerndes Erhitzen einer Bakterienaufschwemmung auf 60—62° genügte, um die Bakterien abzutöten, während die auf 45°, 50° und 55° erhitzten Röhrchen der Serie A weiterverimpft, wieder angingen.

T i e r p a t h o g e n i t ä t .

Tierversuche mit Knöllchenbakterien sind in der Literatur spärlich verzeichnet; M a z é z. B. faßt das Resultat seiner Untersuchungen folgendermaßen zusammen: le microbe des légumineuses est pathogène pour quelques espèces animals; il affecte dans l'organisme une forme à peu près ronde d'un diamètre très réduit, elle a une tendance à se mettre en chaîne.“

Er impfte kleinen Kaninchen sowohl unter die Haut, wie in die Bauchhöhle Aufschwemmungen von Knöllchenbakterien mit dem Erfolge, daß die Tiere nach 10—21 Tagen der Einspritzung erlagen; in der reichlich vermehrten Peritonealflüssigkeit fand er regelmäßig die eingespritzten Bakterien wieder; niemals dagegen im Blute.

Machte er Aussaaten der Bauchhöhlenflüssigkeit, so zeigten die gewachsenen Bakterien dieselben Eigenschaften wie die eingespritzten.

Nach der subkutanen Einverleibung beobachtete er jedesmal langsam sich entwickelnde Abszesse.

Zu den eignen diesbezüglichen Versuchen wurden verschiedene Tierarten herangezogen:

1) W e i ß e M ä u s e (ca. 20 g schwer).

Begonnen wurde mit kleinen Dosen. Eine gewöhnliche Agarröhrchenkultur wurde mit 10 ccm steriler Kochsalzlösung abgeschwemmt und davon je zwei Tieren 0,5 ccm = $\frac{1}{20}$ Kultur und 1 ccm = $\frac{1}{10}$ Kultur intraperitoneal eingespritzt; diese Menge wurde vollkommen reaktionslos vertragen, weiterhin wurden zwei Mäusen je $\frac{1}{10}$ Kultur unter die Haut injiziert. Diese Einspritzung rief keinerlei Schädigung des Allgemeinbefindens und keinerlei Abszeßbildung hervor. Da diese kleinen Mengen anstandslos vertragen wurden, so mußte, wollte man einen Ausschlag bekommen, die Dosis gesteigert werden; zu diesem Behufe wurde ein Röhrchen mit nur 4 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und hiervon einer Maus 0,5 ccm = $\frac{1}{8}$ Kultur und einer anderen 1 ccm = $\frac{1}{4}$ Kultur intraperitoneal eingespritzt, ohne daß dadurch Krankheitserscheinungen irgend welcher Art ausgelöst wurden.

2) G r a u e F e l d m ä u s e .

Bei diesen Versuchen wurden als Anfangsgaben gleich größere Mengen verwendet, indem verschiedenen Tieren $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ und $\frac{1}{1}$ Kulturen mit Kochsalzlösung abgeschwemmt, intraperitoneal eingespritzt wurden; auch nach subkutaner Einverleibung von $\frac{1}{2}$ Kultur blieben die Mäuse vollkommen gesund; Abszeßbildung wurde nicht beobachtet.

3) W e i ß e R a t t e n (ca. 200 g schwer)

wurden per os, subkutan und intraperitoneal mit verschiedenen Mengen Knöllchenbakterien, beginnend mit $\frac{1}{2}$ Kultur steigend bis zu 2 Kulturen, behandelt; auch diese Tiere reagierten in keiner Weise auf die eingeführten Bakterien; sie blieben vollkommen gesund.

Dieselben Resultate zeitigten auch die Versuche mit

4) Meerschweinchen (ca. 400 g schwer).

Die Dosen wurden bei diesen Tieren bis zu 3 Kulturen gesteigert; in keinem Falle gelang es auf eine der angegebenen Einverleibungsarten die Tiere krank zu machen.

5) Auch Kaninchen (ca. 2000 g schwer)

zeigten sich Knöllchenbakterien gegenüber vollkommen indifferent. Einerlei ob die Tiere intravenös, intraperitoneal, per os oder subkutan behandelt wurden; niemals kam es trotz der hohen Dosen — es wurden den Kaninchen bis 5 Kulturen auf einmal beigebracht — zu krankhaften Erscheinungen, ausgenommen nach intravenöser Einverleibung der hohen Dosen, in welchen Fällen die Tiere etwa 24 Stunden lang apathisches Wesen zur Schau trugen, wohl auch keine rechte Freßlust zeigten Erscheinungen, die aber schnell vorübergingen.

Bei subkutaner Darreichung wurde in keinem Falle Abszeßbildung wahrgenommen.

Zum Schluß sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Beobachtungszeit bei all diesen Versuchen sich auf einen Zeitraum von 8 Wochen erstreckte, und daß dieselben wohl zu der Folgerung berechtigen, daß die Knöllchenbakterien für Tiere vollkommen unschädlich sind.

Um Aufschluß über den Verbleib der in die Bauchhöhle eingebrachten Mikroorganismen zu erhalten, wurde einem Meerschweinchen eine Kultur Knöllchenbakterien intraperitoneal einverleibt und in stündlichen Intervallen die Bauchhöhlenflüssigkeit untersucht.

Zu diesem Zwecke wurde auf der Bauchseite mittelst Schere eine Hauttasche angelegt, und in dieser mit einer feinen Glaskapillare das Bauchfell durchstoßen. Das in die Kapillare eintretende Exsudat wurde nun im hängenden Tropfen beobachtet.

Nach einer Stunde zeigten sich massenhaft Bazillen, äußerst lebhaft beweglich; nach zwei Stunden waren Bewegung und Bazillen geringer geworden; nach drei Stunden in noch höherem Maße. Nach Verlauf von 5 Stunden waren nur noch wenige, unbewegliche Stäbchen zu finden, nach etwa 6 Stunden waren die eingebrachten Organismen verschwunden; die Leukocyten waren außerordentlich vermehrt; im Blute selbst konnten niemals Stäbchen nachgewiesen werden.

Arteinheit oder -verschiedenheit.

Auch über die Arteinheit resp. -verschiedenheit sind die Ansichten trotz der mannigfachen Spezialarbeiten noch keineswegs genügend erklärt und einheitlich.

Auf die Untersuchungen der einzelnen Forscher ausführlicher einzugehen, lag von vornherein außerhalb des Rahmens dieser Arbeit, betrachtet man indessen die Ergebnisse derselben im großen und ganzen, so findet man die folgenden Ansichten vertreten:

1) Die Knöllchenbakterien sind alle Angehörige ein und derselben Art. Von einer Unterscheidung in verschiedene Arten kann nicht die Rede sein, höchstens in einzelne Spezies dieser Art, die durch Anpassung an verschiedene Wirtspflanzen zustande gekommen sind. (Nobbe, Heinze, Buhlert, Schulze, Moore.)

2) Die Knöllchenbakterien lassen sich scharf in zwei unterschiedliche Gruppen trennen (Beijerinck, Mazé, Hiltner und Störmer.)

3) Die Knöllchenbakterien lassen sich nicht nur in zwei, sondern in vier und mehr Gruppen trennen (M a a ß e n und M ü l l e r).

Als Beweise führen die Vertreter der beiden letztgenannten Ansichten an:

Verschiedenartiges Wachstum auf festen Böden, teils agar- teils nur gelatinewüchsig, teils nur saures, teils nur alkalisches Nährsubstrat;

unterschiedliches Verhalten in flüssigen Nährmedien, Nahrungsstoffen, speziell Kohlehydraten und stickstoffhaltigen Stoffen gegenüber;

verschiedene morphologische, biologische und physiologische Eigentümlichkeiten;

Säure- und Schleimbildung, Reduktionsvermögen;

Unterschied in den Formen künstlich erzeugter Bakteroiden;

verschiedenes Verhalten bei den angestellten Pflanzenversuchen.

Volle Überzeugungskraft wohnt all den herangezogenen Unterscheidungsmerkmalen nicht inne, wenn man berücksichtigt, wie leicht und schnell morphologische oder biologische Eigenschaften eines Organismus unter den verschiedenartigsten Bedingungen eine tiefgreifende Veränderung erfahren können.

Bei den eigenen folgenden Untersuchungen blieben deshalb die angegebenen Differenzierungsmerkmale vollkommen unberücksichtigt; es wurde vielmehr ein neuer Weg eingeschlagen und versucht mittelst serobiologischer Methoden eine Klärung der Frage herbeizuführen.

Spritzt man einem Kaninchen Zellgewebe oder Bakterien oder deren wässrige Extrakte in die Blutbahn, so reagiert nach mehreren Injektionen der Organismus des Tieres auf dieselben mit der Erzeugung der verschiedenartigsten Stoffe; er bildet Lysine, Agglutinine, Präzipitine und Tropine.

Das Serum eines solcherart behandelten Kaninchens hat nun gewisse Eigenschaften erlangt, die sich zur sicheren Unterscheidung der verschiedenen Mikroorganismen heranziehen lassen, weil die damit ausgeführten Reaktionen streng spezifisch sind; d. h. nur mit den Bakterien eintreten, mit denen die Tiere vorbehandelt sind; freilich mit der Einschränkung, daß die Reaktion bei artverwandten Bazillen in gewisser Konzentration schwach positiv sein kann.

Vorgreifend sei hier schon erwähnt, daß Kaninchen mit Knöllchenbakterien behandelt, ein agglutinierendes Serum liefern.

Bildet ein Mikroorganismus Agglutinine, so hat das Serum des Tieres die Eigenschaft gewonnen, die als Antigen benutzten Zellelemente, Bakterien usw., sobald man sie in mehr oder minder stark verdünnte Lösungen des betreffenden Serums gleichmäßig verteilt, zusammenzuballen, zur Verklebung zu bringen, zu agglutinieren.

Macht man sich also eine Bakterienaufschwemmung, verteilt diese zu gleichen Teilen in Reagensröhrchen und setzt nun das Serum in verschiedenen Verdünnungen zu, so sieht man bald, wie sich in der anfangs gleichmäßig getrübten Emulsion wolkenartige Schleier bilden, die sich mehr und mehr zusammenballen, um dann schließlich als mehr oder weniger flockig-lockerer Bodensatz niederzufallen, über sich eine vollkommen wasserklare Flüssigkeit lassend.

Bewegliche Arten verlieren durch die Einwirkung des Serums ihre Beweglichkeit, ohne aber sonst in irgendeiner Weise schädlich beeinflusst zu werden; sie behalten ihre volle Lebensenergie bei.

Zur Gewinnung des Serums wurden sowohl Erbsenknöllchen wie Erbsenbakterien verwendet.

K n ö l l c h e n s e r u m.

Erbsenknöllchen wurden auf dieselbe Weise, wie bei der Gewinnung der Reinkulturen beschrieben, gereinigt, lufttrocken in sterilem Mörser zerquetscht und mit physiologischer Kochsalzlösung ausgelaugt.

Die erhaltene milchig-weiße Emulsion wurde in ein Reagensröhrchen gegossen, damit sich die gröberen Knöllchenzellbestandteile absetzten, und dann Kaninchen in etwa 10tägigen Zwischenräumen in steigenden Mengen in die Blutbahn gespritzt.

Die erste Injektion enthielt 0,3 g lufttrockne Erbsenknöllchen in ca. 10 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt; die folgenden steigend, 0,6, 0,75 und 0,9 g ebenfalls in 10 ccm Flüssigkeit.

Nach der dritten Einspritzung wurden von den Tieren zwecks Feststellung des Agglutinationstiters einige ccm Blut aus der Ohrvene entnommen.

Während das eine Tier A überhaupt nicht auf die Einspritzungen reagierte, erwies sich das Serum des anderen Tieres B schon recht brauchbar, wie der Agglutinationsversuch I zeigt.

Um nicht unnötig Wiederholungen machen zu müssen, sei darauf hingewiesen, daß alle Agglutinationsversuche unter stets gleichen Bedingungen angestellt wurden.

Zu je 1 ccm leicht, aber deutlich getrübt, vollkommen homogener Knöllchenbakterienaufschwemmung (ev. durch gehärtete Filter filtriert) die in kleine Röhrchen verteilt war, wurden gleiche Mengen, jedesmal ein Tropfen, des verschieden stark verdünnten Serums zugegeben.

Nachdem die Röhrchen durchgeschüttelt waren, um eine möglichst innige Berührung des Serums mit den Bakterien zu erzielen, wurden sie in den 37°-Brutschrank gebracht, und nach verschiedenen Zeiten, nach einer Stunde, nach 5 und nach 24 Stunden geprüft.

Die Beobachtung des Agglutinationsphänomens geschah makroskopisch im Agglutinoskop, einem Apparate, der so konstruiert ist, daß vermittelt eines verstellbaren Spiegels Lichtstrahlen durch einen schmalen Spalt auf die wagerecht liegenden, die Agglutinationsprobe enthaltenden Röhrchen geworfen und von den zusammengeballten Bakterien reflektiert werden; die optische Wirkung wird noch dadurch erhöht, daß man das Bild gegen einen kleinen, unterhalb des Beleuchtungspaltes schräg angebrachten schwarzen Schirm durch schwache Lupenvergrößerung betrachten kann; die agglutinierten Bakterien erscheinen dann als helle Flocken auf dunklem Grunde.

Als positiv agglutinierend galt ein Röhrchen, wenn man deutlich Flockenbildung erkennen konnte; die in den Tabellen gebrauchten Zeichen bedeuten:

- + + grobflockiger Niederschlag, die überstehende Flüssigkeit ist vollkommen klar.
 + feinflockige Häufchenbildung.
 — keine Agglutination.

A g g l u t i n a t i o n s v e r s u c h I.

A u f s c h w e m m u n g:

Inhalt von Erbsenknöllchen mit Kochsalzlösung ausgelaugt 1 ccm.

S e r u m:

von Kaninchen, die mit dem Inhalte der Erbsenknöllchen behandelt sind

Titer		1 : 20	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 2000	1 Tropfen.
nach 1—2 Std.		++	++	+					—
„ 5 „				++	++	+			—
„ 24 „						++	++	+	—

Da, wie die Praxis gezeigt hat, normales Kaninchenserum auch Agglutinine enthalten kann, wenn auch nur in geringen Mengen, sodaß der Titer, d. h. die noch wirksame Verdünnung 1 : 50 nicht übersteigt, so wurde derselbe Versuch mit normalem Kaninchenserum wiederholt.

Agglutinationsversuch II.

Aufschwemmung:

Inhalt von Erbsenknöllchen mit Kochsalzlösung ausgelaugt							1 ccm.
Serum:							1 Tropfen.
	eines normalen, unbehandelten Kaninchens						Kontrolle
Titer	1 : 20	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000		
nach 1—2 Std.							—
„ 5 „	+						—
„ 24 „		—	—	—	—		—

Dieser Versuch zeigte, daß normales Serum nur mit dem niedrigen Titer 1 : 20 die Fähigkeit besaß, auf Knöllchenbakterien agglutinierend zu wirken, dieser kleine Übelstand läßt sich natürlich leicht ausschalten, indem man sich bei den Versuchen möglichst hochwertiger Sera bedient.

Um nun auch Gewißheit zu haben, ob das aus Knöllcheninhalt gewonnene Serum ebenfalls imstande war, reingezüchtete Knöllchenbakterien zu agglutinieren, wurde der

Agglutinationsversuch III

angestellt.

Aufschwemmung:

reingezüchtete Erbsenbakterien in Kochsalzlösung							1 ccm.
Serum:							1 Tropfen.
	von Kaninchen, die mit dem Inhalte der Erbsenknöllchen behandelt sind						Kontrolle
Titer	1 : 20	1 : 100	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 2000	
nach 1—2 Std.	++	++	+				—
„ 5 „			++	++	+		—
„ 24 „					++	+	—

Agglutinationsversuch IV.

wurde in gleicher Weise angestellt wie Versuch III; als Aufschwemmung dienten reingezüchtete Knöllchenbakterien in Kochsalzlösung und an Stelle des durch Behandeln eines Kaninchens mit Knöllcheninhalt gewonnenen Serums trat das Serum eines normalen, unbehandelten Tieres.

Bei diesem Versuch trat eine Agglutination nicht ein.

Durch diese orientierenden Versuche war festgestellt, daß die aus den Erbsenknöllchen isolierten Bakterien typische Erbsenbakterien waren.

An dieser Stelle sei noch hervorgehoben, daß mit allen vier isolierten Bakterienarten außerdem erfolgreiche Infektionsversuche ausgeführt wurden, durch die die Identizität der Knöllchenorganismen erwiesen war.

Wie ein weiterer Blick auf die einzelnen Tabellen lehrt, blieben die Kontrollen in der Kochsalzlösung ohne jeglichen Serumzusatz vollkommen homogen. Kochsalz hatte also keinen agglutinierenden Einfluß; es sei dies deshalb hervorgehoben, weil man gelegentlich die Beobachtung gemacht hat, speziell bei Kulturen, die längere Zeit im Laboratorium fortgezüchtet wurden, daß die Verdünnungsflüssigkeit allein schon imstande war, eine Verklebung der Bakterien herbeizuführen (Pseudoagglutination).

Um den Titer des Knöllchenserums weiter zu steigern, wurden dem Kaninchen B nochmals Erbsenknöllchen, und zwar diesmal 0,9 g injiziert; leider erlag das Tier wenige Tage nach der Injektion der sogenannten Kaninchenseuche, sodaß die Versuche, da frische Knöllchen in ausreichender Menge nicht zur Verfügung standen, nach dieser Richtung hin vorläufig nicht weiter ausgedehnt werden konnten.

Über die Artenfrage sollen deshalb, so bald frisches Material in genügenden Mengen leicht zu beschaffen ist, weitere, eingehendere Untersuchungen angestellt werden.

Wie anfangs erwähnt, waren gleichzeitig auch zwei Kaninchen C und D mit Erbsenbakterien behandelt worden, derart, daß ihnen Reinkulturen in steigenden Mengen in 10tägigen Zwischenräumen intravenös einverleibt wurden, die Anfangsdosis betrug eine Kultur, abgeschwemmt mit 10 ccm Kochsalzlösung; spätere Einspritzungen enthielten 2 auch 3 Kulturen; die Dosis noch weiter zu steigern empfahl sich aus dem Grunde nicht, weil die durch Abschwemmung von 3 Röhrchen erhaltene Flüssigkeit von einer recht schleimigen Beschaffenheit und leicht schon durch bloßes Einspritzen die Tiere zu schädigen imstande war; wie die Versuche ergaben, genügten verschiedene Injektionen je zweier Kulturen vollkommen, um ein brauchbares Serum zu erhalten.

Nachdem die Tiere drei Einspritzungen erhalten hatten, wurden ihnen aus der Ohrvene Blutproben entnommen und damit vorerst orientierende Versuche angestellt.

Agglutinationsversuch V.

Aufschwemmung:

Erbsenknöllchen in Kochsalzlösung

je 1 ccm.

Serum:

von Kaninchen mit Erbsenbakterien behandelt

je 1 Tropfen.

Titer	1 : 20	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000	Kontrolle
nach 1—2 Std.	++	++	++				—
„ 5 „				++			—
„ 24 „					++	++	—

Das Ergebnis der Einwirkung des Bakterienserums auf die Bakterien ergab

Agglutinationsversuch VI.

Aufschwemmung:

reingezüchtete Erbsenbakterien in Kochsalzlösung.

Serum:

von Kaninchen mit Erbsenbakterien behandelt.

Titer	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000	Kontrolle
nach 1—2 Std.	++	++	+			—
„ 5 „			++	+		—
„ 24 „				++	++	—

Auch zu diesen Versuchen wurden Parallelversuche mit Normalserum angestellt, sie bestätigten im wesentlichen die Resultate der Versuche III und IV, d. h. Normalserum agglutinierte nur mit dem Titer 1 : 20.

Um von den Tieren ein noch höherwertiges Serum zu erlangen, wurden sie noch zweimal mit je 2 Kulturen behandelt und dann entblutet, das Serum hatte jetzt einen Titer von 1 : 10 000, wie der orientierende

Agglutinationsversuch VII

ergab.

Aufschwemmung:

reingezüchtete Erbsenbakterien in Kochsalzlösung

je 1 ccm.

Serum:						
von Kaninchen mit Erbsenbakterien behandelt						je 1 Tropfen.
Titer	1 : 100	1 : 1000	1 : 4000	1 : 8000	1 : 10000	Kontrolle
nach 1—2 Std.	++	++				—
„ 5 „			+			—
„ 24 „			++	++	++	—

Um nun die Einwirkung des agglutinierenden Erbsenserums auf die aus den verschiedenen Leguminosenknöllchen isolierten Bakterien zu studieren, diente der

Agglutinationsversuch VIII.

a) Aufschwemmung:
reingezüchtete Bakterien aus *Phaseolus vulgaris* in Kochsalzlösung je 1 ccm.

Serum:						
von Kaninchen mit Erbsenbakterien behandelt						je 1 Tropfen.
Titer	1 : 100	1 : 1000	1 : 4000	1 : 8000	1 : 10000	Kontrolle
nach 1—2 Std.	++	++	+			—
„ 5 „			++			—
„ 24 „				++	++	—

b) Aufschwemmung:
reingezüchtete Bakterien aus *Vicia faba* in Kochsalzlösung je 1 ccm.

Serum:						
von Kaninchen mit Erbsenbakterien behandelt						je 1 Tropfen.
Titer	1 : 20	1 : 100	1 : 1000	1 : 5000	1 : 10000	Kontrolle
nach 1—2 Std.	—					—
„ 5 „	—					—
„ 24 „	+	—	—	—	—	—

c) Aufschwemmung:
reingezüchtete Bakterien aus *Trifolium pratense* in Kochsalzlösung je 1 ccm.

Serum:						
von Kaninchen mit Erbsenbakterien behandelt						je 1 Tropfen.
Titer	1 : 20	1 : 100	1 : 1000	1 : 5000	1 : 10000	Kontrolle
nach 1—2 Std.	—					—
„ 5 „	—					—
„ 24 „	+	—	—	—	—	—

Zur Kontrolle wurde sowohl der Versuch VII wiederholt, und zwar mit gleichem Resultate, als auch die Aufschwemmungen von *Phaseolus*, *Vicia*-*Trifolium* bakterien mit normalem Kaninchenserum in verschiedenen Verdünnungen versetzt; bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß normales Kaninchenserum mit einem Agglutinationstiter 1 : 20 im Verlaufe von 24 Stunden auf alle vier Bakterienarten einwirkt; weitere Verdünnungen 1 : 50, 1 : 100 usw. keinerlei Reaktionen hervorriefen, ebenso hielten sich die ohne Serum angesetzten Bakterien-Kochsalzaufschwemmungen unverändert.

Als Resultat der vorstehenden Untersuchungen ergibt sich somit, daß mit der Agglutinationsmethode, die allgemein in der bakteriologischen Technik bei Verwendung genügend hochgradiger Verdünnung (= hochwertige Sera) als streng spezifisch angesehen wird, ein Unterschied zwischen den aus Erbsen- und Bohnenknöllchen gezüchteten Mikroorganismen nicht gefunden wurde, da beide von demselben Serum noch in einer Verdünnung von 1 : 10 000 agglutiniert wurden.

Die aus Klee- und Pferdebohnenknöllchen gewonnenen Bakterien müssen nach dem Ausfall dieser Probe als artverschieden angesprochen werden, da

auch bei stärkster Konzentration des Serums eine Agglutination derselben nicht erreicht werden konnte.

Die aus Erbsen- und Bohnenknöllchen gezüchteten Organismen stellen demnach identische Bakterienformen dar und müssen von denen der Klee- und Pferdebohnenknöllchen getrennt werden.

Man ist demnach zu dem Schlusse berechtigt, daß, wie bei den anderen Bakterien, auch bei den einzelnen Knöllchenbakterien Artverschiedenheit herrscht.

Wieweit die bisher aus den verschiedenen Leguminosen gezüchteten Mikroorganismen nach Maßgabe dieser Probe nicht doch zu einzelnen Gruppen vereinigt werden müssen, kann auf Grund der vorstehenden Untersuchungen nicht entschieden werden.

Jedenfalls hat es sich erwiesen, daß die angegebene Methode als brauchbar für die Unterscheidung der verschiedenen Knöllchenbakterien herangezogen werden kann und daß durch Anwendung der Agglutination eine Klärung dieser Frage erhofft werden darf.

Bakteroidenfrage.

Wie in der Einleitung schon hervorgehoben, waren auch in der Bakteroidenfrage die Ansichten über die Entstehung und Bedeutung der Bakteroiden und ihrer eventuellen Erzeugung außerhalb der Knöllchen auf künstlichen Nährsubstraten noch keineswegs einheitlich.

Regelmäßig resultierten bei den Züchtungsversuchen der Knöllchenbakterien auf festen Nährböden Stäbchen, während verzweigte Formen, wie sie sich in der Überzahl in den Knöllchen vorfinden, nur einzelne Forscher gesehen hatten.

So hat wiederum als erster Beijerinck auf einer Leguminosen-Rohrzuckergelatine alle Entwicklungsstadien angetroffen: Stäbchen, Bakteroiden und Sterne i. e. eigenartige, drei- bis vielarmige Gebilde.

Mazé sah auf einem mit Wein- resp. Oxalsäure versetzten und zeitweise bei 35° gehaltenen Agar Involutionsformen, die nach kurzer Zeit verschwanden und nach Übertragung auf alkalisch reagierenden Nährboden als Stäbchen weiterwuchsen.

Hiltner und Nobbe beobachteten namentlich bei Lupinenbakterien, selbst nach mehrfachen Übertragungen, Gebilde, die durch ihre Größe und charakteristische Gestalt unzweifelhaft als Bakteroiden angesprochen werden mußten.

Maassen und Müller züchteten auf festen, mit verschiedenen Chemikalien versetzten Nährböden bei allen Knöllchenbakterien innerhalb 24—48 Stunden dieselben Formen, wie sie sie in den verschiedenen Fällen innerhalb der sogenannten wirkungsfähigen Knöllchen anzutreffen pflegten.

Bei älteren Kulturen auf Kartoffelkuchen fand Stefan bakteroidenähnliche Körperchen, von denen er aber keine weitere Entwicklung erzielen konnte.

Simon erwähnt, daß bei fortgesetzter Züchtung auf Gelatine häufig Vegetationsformen sich bildeten, die den in den Wurzelknöllchen normal sich vorfindenden konform waren; er bemerkt aber dazu, daß man es hier höchstwahrscheinlich mit pathologischen Erscheinungen zu tun habe, vielleicht infolge Einfluß ungünstiger Ernährungsbedingungen; er läßt es denn auch unentschieden, ob diese mit den in den Knöllchen vorkommenden identisch sind.

In Isolationskulturen traf R o s s i ziemlich zahlreich verzweigte Formen an, die an Bakteroiden erinnerten; wenn er ferner auf Peptongelatine verimpfte, so trat zwar keine Vermehrung der Bakterien ein, wohl aber verwandelten sich die ausgesäten Stäbchen in Bakteroiden.

H a r r i s o n und B a r l o w sahen gelegentlich sowohl in flüssigen wie in festen Kulturmedien verzweigte Formen.

In flüssigen Nährsubstraten, und zwar in Erbsenbouillon, züchteten L a u r e n t und später auch D a w s o n neben Stäbchen auch Bakteroiden, während sie auf festen Böden ausschließlich Stäbchenformen erzielten.

Soweit diese zufälligen Beobachtungen, die naturgemäß stark subjektiver Natur sein dürften.

Sie lassen sich leicht und ungezwungen folgendermaßen erklären:

Diejenigen Forscher, die an frischen Isolationskulturen die Wahrnehmungen auf festem Nährboden machten, hatten sicher nichts anderes vor sich als unverändert gebliebenes Bakteroidenmaterial aus den Knöllchen; dagegen waren die verzweigten Formen, die andere Forscher in alten Kulturen sahen, zweifelsohne Involutionsformen, wie sie andere Bakterien unter unzulänglichen oder schädigenden Lebensbedingungen auch bilden, die aber wohl auseinandergehalten werden müssen mit den eine besondere Form des Wachstums und der Lebensäußerung darstellenden Bakteroiden.

Es sei deshalb an dieser Stelle gestattet, einige Bemerkungen über Involutionsformen und Bakteroiden einzuschalten.

Früher bezeichnete man jede Formveränderung der Bakterien, die nicht mit der sonst üblichen übereinstimmte, schlechtweg als Involutionsform.

Da diese Erscheinungen meist nur in älteren Kulturen, die durch Verbrauch der Nährstoffe, durch Ansammlung giftiger Stoffwechselprodukte usw. äußerst ungünstige Nährmedien darstellten, beobachtet wurden und eine Lebens- und Wachstumsschädigung zur Folge hatten, so deckten sich in älteren Literaturangaben Involutionsformen mit pathologisch veränderten, nicht mehr lebensfähigen Formen.

Auf Grund neuerer Beobachtungen, die man speziell bei den Erregern der Diphtherie, der Tuberkulose, des Rotzes u. a. m. machen konnte, gelangte man zu der Überzeugung, daß diese echten Verzweigungen keine Degenerationserscheinungen darstellten — denn unter besonders ungünstigen Bedingungen gezüchtet, unter denen man diese anormalen Formen am ehesten erwarten mußte, traten sie nicht auf — sondern im Gegenteil den Ausdruck gesteigerter Lebenstätigkeit.

Man findet die verzweigten Formen nur unter gewissen, nicht vollkommen genau bekannten Voraussetzungen; sie stellen jedenfalls die Anpassungsform der Bakterien an eine besondere Funktion dar, und steht ihre Form in einem gewissen Zusammenhange mit der besonderen Art der Ernährung oder Beeinflussung.

Infolge der Unsicherheit der Begriffe haben die Bakteroiden im Laufe der Zeit auch die verschiedenartigsten Deutungen durchgemacht.

Während F r a n k ihnen bakteriellen Ursprung überhaupt absprach, nach ihm waren sie ja weiter nichts als Produkte der Pflanze selbst, Eiweißkörper, hielten sie andere Forscher (P r a ž m o w s k i, M a a s s e n, S t e f a n) für degenerierte, absterbende Gebilde, die nicht in den normalen Entwicklungskreis der Bakterien gehörten.

Weiterhin hat es nicht an Stimmen gefehlt (L a u r e n t, N o b b e ,

Hartleb, Hiltner, Schulze, Heinze und neuerdings Peklo), die ihnen Sporangienatur, wenn auch unvollkommener Art, zusprachen.

Stutzer dagegen erkannte wohl als erster den wahren Charakter der Bakteroiden; nach seinen Angaben stellten sie nicht Degenerationsformen, sondern höhere Wuchsformen dar, eine Ansicht, die auch von späteren Forschern (Löhnis, Simon, Rossi, Buchanan) geteilt wurde, nämlich, daß es sich um normale, lebenskräftige Entwicklungsstadien handelt, die unter noch nicht genau bekannten Einflüssen entstehen, und mit dieser Erklärung dürfte wohl auch das Richtige getroffen sein.

Verschiedene Forscher glaubten nun, den Ausbau der Bakteroidenfrage dadurch zu fördern, daß sie sich mit der experimentellen Erzeugung der Bakteroiden außerhalb der Knöllchen, also unabhängig von denselben und losgelöst von den natürlichen Wachstumsbedingungen, auf künstlichen Nährböden befaßten, um durch Rückschlüsse Einblick in die innerhalb der Knöllchen sich abspielenden Vorgänge zu gewinnen.

So verschiedenartig die einzelnen Versuchsanordnungen waren, so verschiedenartig und widersprechend waren natürlich auch die Ergebnisse der Untersuchungen, so daß in diesem Punkte der Knöllchenfrage noch längst nicht die genügende Klarheit geschaffen ist.

In folgenden Zeilen sind die hauptsächlichen Stoffe, denen die einzelnen Forscher die Fähigkeit zuschrieben, resp. mit denen es ihnen experimentell gelungen war, die stäbchenförmigen Bakterien in verzweigte Formen überzuführen, und die aus diesen Beobachtungen sich ergebenden Folgerungen übersichtlich zusammengestellt.

Übersicht

der Stoffe, die nach Ansicht der einzelnen Forscher an der Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden beteiligt sind, resp. mit denen sie dieselben erzielten und der aus diesen Versuchsergebnissen abgeleiteten Schlüsse.

1) Samenextraktivstoffe (Stutzer, Neumann).

Leguminosensamenauszüge, teils für sich allein, teils in Kombination mit Kohlehydraten und Mineralsalzen: Salpeter, phosphorsaures Kali und Magnesium.

Einen wesentlichen Einfluß übt nur die Konzentration des Extraktes aus; Salze sind ohne jeden Einfluß; die Zugabe von Kohlehydraten verstärkt die Wirkung.

2) Wurzelextraktivstoffe (Hiltner, Neumann).

Leguminosenwurzelauzüge in Verbindung mit Traubenzucker.

Gewisse Substanzen, die sich innerhalb des Knöllchengewebes vorfinden, bewirken die Umwandlung in Bakteroiden; vielleicht spielt dabei auch das lebende Protoplasma eine Rolle (eine Vermutung, die als erster Prazmowski aussprach).

Säuren oder Salze sind ohne wesentliche Bedeutung.

3) Organische Säuren (Stutzer, Neumann, Buchanan). und deren Salze; vertreten ist eine große Zahl der Fettsäurereihe.

Ursache der Bakteroiden wird zurückgeführt auf den sauren Zellsaft der Pflanze, resp. auf die durch Gärung der Kohlehydrate spontan auftretende Säurebildung.

4) Nährstoffe der Pflanze (Laurent, Hiltner, Smith, Neumann, Buchanan).

a) Kohlehydrate allein,

b) in Verbindung mit stickstoffhaltigen Körpern organischer und anorganischer Art (Asparagin, Salpeter).

Hiernach gilt die Kohlenstoffquelle für die alleinige Ursache der Bakteroidenbildung; speziell in solchen Fällen, in denen der C-Gehalt des Nährsubstrates den N-Gehalt um ein beträchtliches übersteigt.

c) Mineralstoffe allein (Salpeter, saure phosphorsaure Salze).

Während andere Forscher den Salzen nur untergeordnete Bedeutung beimessen, schreiben Hartleb, Neumann ausschließlich den sauren Salzen die Umformung zu.

5) Stickstoffhaltige Substanzen (Neumann, Buchanan).

Glykoside, Urinlösungen, Erdauszüge. Verschiedene Forscher führen auf diese Stoffe die Umwandlung der Stäbchen in Bakteroiden zurück.

6) Keine chemischen Substanzen (Süchting, Moore), sondern Vorgänge physikalischer Art.

Chemische Stoffe haben keinen Einfluß auf die Entstehung der Bakteroiden, sondern verminderter Sauerstoffdruck und Verdünnung resp. Unschädlichmachen der giftigen Stoffwechselprodukte.

Alle diese Forscher, die sich mit der Frage der experimentellen Erzeugung der Bakteroiden außerhalb der Pflanze näher befaßten, arbeiteten bei ihren Versuchen stets mit Nährlösungen, denen die spezifischen Stoffe zugesetzt waren.

Vereinzelt findet sich dann auch in den Arbeiten die Bemerkung, daß Bakteroidenbildung auf festen Nährböden nur in den seltensten Fällen beobachtet worden ist, ein Umstand, der Süchting dazu bestimmte, chemischen Stoffen überhaupt jede Einwirkung auf die Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden abzusprechen, dafür aber verantwortlich zu machen einestheils den geringeren Sauerstoffdruck, der in Lösungen im Gegensatz zu den festen Böden vorhanden ist, andernteils die Flüssigkeit als solche selbst, da durch sie die schädlichen Stoffwechselprodukte verdünnt würden und nun der Bakteroidenbildung nicht mehr hindernd im Wege ständen.

Bei seinen Versuchen überschichtete Süchting Agar- oder Gelatineröhrchen mit sterilem Wasser und erzielte bei den verwendeten Pferdebohnen- und Lupinenbakterien außerordentlich große, teils gerade, teils einseitig gebuckelte, ja auch verzweigte Formen.

Eine vorgenommene Nachprüfung konnte aber die Befunde Süchtings in keinem Falle bestätigen; die mit Wasser überschichteten Röhrchen zeigten nach der Beimpfung ein ganz spärliches Wachstum, im gefärbten Präparat waren nur Kurzstäbchen zu erkennen, die Kontrollröhrchen boten die bekannten Wachstumserscheinungen dar.

Im Verlaufe der Untersuchungen erschien es angebracht, die Einwirkungen einzelner Stoffe, die nach Angabe der betreffenden Forscher in flüssigen Nährmedien bakteroidenbildende Eigenschaften besitzen, in festen Nährsubstraten auf Knöllchenbakterien zu untersuchen, speziell aber diejenigen, die als Nahrung oder als Stoffwechselprodukte der Pflanze oder der Bakterien in Frage kommen konnten.

Vielleicht gewann man auf diese Weise Aufschluß über das Wesen und die Bedeutung der Bakteroiden.

Zu diesem Zwecke wurden die betreffenden Stoffe, wenn wasserlöslich, in wenig Wasser gelöst, wenn schwer- oder unlöslich, ganz fein mit wenig Wasser verrieben event. unter Zusatz von einer geringen Menge Gummi arabicum und dann gewöhnlichem neutralen Leguminosenagar oder -gelatine in verschiedenen Mengenverhältnissen zugesetzt.

I. Versuche mit organischen Säuren.

Wie mehrfach schon erwähnt, vertreten einzelne Forscher die Ansicht, daß die durch Gärungsvorgänge der Kohlehydrate in den Knöllchen entstehenden Säuren die Veranlassung der Bakteroidenbildung seien und wollen (Stutzer, Hiltner, Buchanan) in säurehaltigen Flüssigkeiten Bakteroiden mit typischen Y-Formen gezüchtet haben.

Die Ansichten über die Fähigkeit fester säurehaltiger Nährböden, Bakteroiden zu bilden, sind noch geteilt; z. B. behauptet Mazé auf einem 0,1 Proz. Weinsäure enthaltenden Agar, den er bei einer Temperatur von 30° bebrütete, typisch verzweigte Formen gesehen zu haben; andere wiederum berichten stets von negativen Resultaten (Stutzer, Süchting).

Bei den dieserhalb angestellten Versuchen fanden Verwendung:

Weinsäure,
Äpfelsäure und
Bernsteinsäure,

derart, daß das Nährsubstrat einen Gehalt von 0,025 Proz., 0,05 Proz., 0,1 Proz., 0,15 Proz. und 0,2 Proz. freie Säure enthielt.

Um trotz des hohen Säuregrades einen brauchbaren, festen Nährboden zu erzielen, mußte in der Weise verfahren werden, daß dem sterilen neutralen und flüssig gemachten Agar kurz vor dem Erstarren die berechnete Säuremenge zugesetzt wurde.

Fügt man die Säure schon bei der Bereitung des Agars resp. der Gelatine zu, und sterilisiert das saure Substrat, so verliert es die Fähigkeit, fest zu werden.

Verfährt man also in der angegebenen Weise, so erstarrt zwar auch noch bei einem Zusatz von 1 Proz. und mehr Proz. Zitronen- oder Äpfelsäure der Agar; er bildet aber ein so gallertartiges weiches Substrat, daß es für Aussaatzwecke nicht benutzt werden kann, ohne die Oberfläche mit der berührenden Nadel vollkommen zu zerreißen.

Es wurden daher bei den hochprozentigen Säureröhrchen je 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung hinzugegeben und durch Hin- und Herschwenken der Röhrchen auf der Oberfläche verteilt, bis sie in den Agar eingezogen.

Die mit Bernsteinsäure versetzten Röhrchen erstarrten auch noch bei einem Gehalte von 0,2 Proz. Säure vollkommen, so daß auf ihnen regelrecht Aussaaten gemacht werden konnten.

Auf den Röhrchen bis zu einem Gehalte von 0,05 Proz. war einiges Wachstum zu erkennen die stärker säurehaltigen Substrate sagten den Organismen nicht mehr zu; die Röhrchen blieben steril.

Bei der mikroskopischen Betrachtung fanden sich nur Stäbchen, die gegenüber den ausgesäten etwas vergrößert erschienen; verzweigte Formen wurden in keinem Falle beobachtet, einerlei, ob die Röhrchen bei 18° oder bei 37° bebrütet worden waren.

II. Versuche mit Eiweißpräparaten.

Nach verschiedenen bekannt gegebenen Analysen (z. B. T r o s c h k e) zeichnen sich die Knöllchen der Leguminosen durch einen hohen Eiweißgehalt aus (30—40 Proz.).

Auch diese Stoffe wurden mit in den Bereich der Untersuchungen gezogen, und das Verhalten der Knöllchenbakterien auf stark eiweißhaltigen Nährböden geprüft.

Bei diesen Versuchen kamen zur Anwendung:

Plasmon,
Tropon,
Roborat,
Sanatogen und
Nutrose

in einem Zusatze von 2 Proz., 5 Proz., 10 Proz. und 15 Proz.

Die Herstellung der viel Eiweiß enthaltenden Nährsubstrate begegnete gewissen Schwierigkeiten, da eine gleichmäßige Verteilung der meist recht schwer wasserlöslichen Präparate nicht ganz einfach war und gestaltete sich dermaßen, daß zu dem fertigen, flüssig gemachten Agar die betreffende Menge Eiweiß mit kaltem Wasser angerührt zugegeben, event. die Reaktion richtig gestellt und das kräftig geschüttelte Gemisch in Flaschen zwei Stunden im Dampfstrom belassen wurde.

Die weiterhin mit diesem Agar beschickten Röhrchen wurden kurz vor ihrem Erstarrungspunkte durch kräftiges Rollen zwischen den Handflächen nochmals homogenisiert und dann schrägegelegt.

Die Nährböden boten bei einem Gehalt bis zu 5 Proz. Eiweiß (einerlei, welches von den obengenannten Präparaten verwendet wurde) den Bakterien ausgezeichnete Lebensbedingungen dar; die ausgesäten wuchsen in bekannter Weise unter starker Schleimbildung.

Die Röhrchen, die einen höheren Eiweißzusatz enthielten, eigneten sich nicht für die Züchtung der Knöllchenorganismen; sie blieben vollkommen steril.

Unter dem Mikroskope sah man die bekannten Kurzstäbchen; verzweigte oder an einzelnen Stellen verdickte Formen wurden in keinem Falle beobachtet.

Auch ohne Zusatz von Leguminosenextrakt eignete sich ein Nährboden der nur aus 2 Proz. eines der angeführten Eiweißpräparate, 1 Proz. Traubenzucker und 3 Proz. Agar mit Leitungswasser hergestellt und mit Apfelsäure leicht angesäuert war, vorzüglich zur Züchtung von Knöllchenbakterien.

III. Versuche mit Kohlehydraten.

Da verschiedene Forscher den hohen Gehalt an Kohlehydraten resp. deren Zersetzungsprodukten für die Entstehung der Bakteroiden verantwortlich machten, so wurden auch diese in den Bereich der Untersuchungen gezogen und Gelatine und Agar mit einem Gehalte von 5 Proz., 10 Proz., 15 Proz. und 20 Proz. Traubenzucker und Rohrzucker hergestellt; ein Unterschied der beiden Zuckerarten konnte nicht beobachtet werden.

Ein Gehalt von 5 Proz. war den Organismen recht zuträglich; auch 10 Proz. sagte ihnen als Nährboden einigermaßen noch zu; ein höherer Zuckerzusatz dagegen erwies sich als ungeeignet; die Röhrchen blieben vollkommen steril.

Die gewachsenen Stäbchen hatten normale Größe und färbten sich

gleichmäßig mit Karbolfuchsin; nur ab und zu konnte man einseitig gebuckelte Formen beobachten; verzweigte Formen hatten sich in keinem Falle gebildet.

Anschließend hieran wurden auch Agar und Gelatine mit einem Gehalte von 5 Proz. und 10 Proz. Mannit verwendet.

Die ausgesäten Stäbchen wuchsen vorzüglich, waren klein, nicht vergrößert und zeigten starke Plasmadifferenzierung; auch schmale etwas verlängerte Formen kamen zur Beobachtung; auch solche, die zum Teil leicht gebogen waren; Y-förmig verzweigte Formen wurden niemals gefunden.

IV. Versuche mit Eiweißab- und -aufbauprodukten und chemisch verwandten Stoffen.

Bei dem Eiweißumsatz in der Pflanze entstehen eine große Menge Zersetzungsprodukte, die teils weiter abgebaut, teils aber wieder zum Aufbau neuer Eiweißmoleküle verwendet werden. Da es sich hierbei immerhin um nicht ganz gleichgültige Stoffe handelt, so war die Möglichkeit einer eventuellen Einwirkung auf die Mikroorganismen nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen; es wurden deshalb verschiedene, im Institut vorhandene Eiweißspaltungsprodukte ihrem Verhalten Knöllchenbakterien gegenüber einer Prüfung unterzogen.

1) Gelatine mit α -Aminoisobutylessigsäure (Leucin).

Zusatz: 0,1 Proz., 0,2 Proz. und 0,3 Proz. in wenig Wasser gelöst.

Die Knöllchenbakterien gedeihen auf der nur 0,1 Proz. enthaltenden Gelatine vorzüglich, auf der höherprozentigen ist das Wachstum langsamer und geringer; in allen Fällen entwickelt sich ein wässrig-durchsichtiger und fadenziehender Schleim.

Im fuchsingefärbten Ausstrichpräparate sieht man neben wenigen unverändert gewachsenen, in der Hauptsache vergrößerte Stäbchen (sowohl Längen- wie Dickenwachstum), gerade, auch leicht gekrümmt; außerdem zeigen die Stäbchen gut ausgeprägte Plasmadifferenzierung, d. h. an einer oder mehreren (bis 3) Stellen hat das Fuchsin zu dem Chromatin eine besonders starke Affinität; man sieht in dem an und für sich nur schwach tingierten Bakterienleib intensiv gefärbte Pünktchen.

Je höher der Prozentgehalt der Nährböden an Leucin war, in um so größerer Menge wurden die rotgefärbten Körperchen sichtbar; verzweigte Formen wurden in keinem Falle beobachtet.

2) Gelatine mit p-Oxyphenyl- α -Amidopropionsäure (Tyrosin).

Zusatz: 0,05 Proz., 0,1 Proz., 0,2 Proz. in Wasser gelöst.

Die Röhrcchen zeigten gegenüber der Leucingelatine bei der makroskopischen Betrachtung keinerlei Unterschied; zwei bis drei Tage nach der Beimpfung bildete sich ein wasserheller, stark fadenziehender Schleim.

Betrachtete man einen gefärbten Ausstrich, so sah man nur breit- und längsvergrößerte Stäbchen, gleichmäßig gefärbt, ohne Differenzierung.

Auf der 0,2 Proz. Tyrosin enthaltenden Gelatine waren nur vereinzelte vergrößerte Stäbchen sichtbar, die Mehrzahl derselben stellte gleichmäßig gefärbte kugelförmige Gebilde dar.

3) Gelatine und Agar mit Cholesterin.

Zusatz: 0,2 Proz., 0,3 Proz. und 0,5 Proz. mit wenig Wasser verrieben, dem heißen Nährsubstrat zugesetzt.

Der Zusatz von Cholesterin übt keinerlei verändernden Einfluß auf das Wachstum der Knöllchenbakterien aus, bietet ihnen vielmehr einen guten Nährboden dar.

Die auf 0,2 Proz. und 0,3 Proz. gewachsenen Bakterien repräsentieren sich als gleichmäßig gefärbte Stäbchen von etwas vergrößerter Form, aber nur gerade; gekrümmte Formen kamen nie zur Beobachtung. Die Stäbchen, die auf 0,5 Proz. Agar gewachsen waren, hatten starke plasmatische Differenzierung und waren teilweise auch leicht gekrümmt.

4) Gelatine und Agar mit Amidobornsteinsäureamid (Asparagin).

Zusatz: 2 Proz. und 5 Proz. in Wasser gelöst.

Der hohe Asparagingehalt läßt die Knöllchenbakterien nur kümmerlich gedeihen; auf dem Agar mit 5 Proz. Gehalt fand überhaupt kein Wachstum mehr statt.

Es waren auf dem 2-proz. Nährboden nur Stäbchen gewachsen, die die Farbe schlecht annahmen, neben stäbchenförmigen fanden sich auch rundliche Gebilde mit körnigem Inhalt vor.

Wurde an Stelle von Asparagin asparaginsaures Natron verwendet, so war keinerlei abweichendes Verhalten zu beobachten, die Resultate deckten sich gegenseitig.

5) Gelatine und Agar mit Nucleinsäure.

Zusatz: 0,2 Proz., 0,5 Proz., 1,0 Proz. und 2,0 Proz. in wenig Wasser gelöst.

Die Nucleinsäure bildete einen vorzüglichen Nährboden; die Kolonien wuchsen mit ausgiebiger weißlicher Schleimbildung, stark fadenziehend; bei den 1 Proz. und 2 Proz. enthaltenden Röhren zeigte der Schleim nach längerem Stehen eine metallglänzende Oberfläche.

Die Präparate stellten gleichmäßig gefärbte, etwas vergrößerte, in der Hauptmenge gerade Stäbchen dar, ohne jegliche Plasmadifferenzierung; ab und zu waren einige schwach gekrümmte Formen zu bemerken.

Derselbe Versuch, mit nucleinsaurem Natrium wiederholt, führte zu demselben Ergebnis.

6) Abkömmlinge und Verwandte der Puringruppe.

Bei seinen Untersuchungen über die Einwirkung anorganischer Salze auf Bakterien hatte Gamaleia gefunden, daß Lithiumsalze imstande waren, bei bestimmten Bakterien eigentümliche komplizierte Formen hervorzubringen, also organische Formen umzugestalten; ein Vorgang, den er mit dem Namen Heteromorphismus belegte. Später dehnte er seine Untersuchungen auf eine große Anzahl anderer Salze aus, ohne jedoch weitere Stoffe zu finden, denen eine solche typische Wirkung innewohnte, wie dem Lithium.

Er suchte naturgemäß nun auch nach einer Erklärung dieses merkwürdigen Vorganges und glaubte sie in der Einwirkung des Lithiumsalzes auf die Nucleine des Bakterienkörpers gefunden zu haben; von diesen Vermutungen ausgehend, daß die Nucleine bei diesen merkwürdigen Umgestaltungen

eine besondere Rolle spielten, prüfte er systematisch Substanzen, die mit den Nucleinbasen in einem verwandtschaftlichen Verhältnisse standen, und fand dann schließlich auch, daß das Trimethylxanthin (Koffein) die Fähigkeit besaß, eine außerordentliche weitgehende gestaltliche Veränderung gewisser Bakterien (Cholera, Milzbrand, Actinomyces, Hefen) hervorzurufen, ferner sie derart zu beeinflussen, daß sie Farbstoffe nur recht schwer annahmen, so daß sie zum Teil vakuolisiert erschienen.

Ausgehend von diesen Betrachtungen, wurde daher auch das Verhalten der Knöllchenbakterien verschiedenen Methylxanthinen und ähnlich zusammengesetzten Körpern gegenüber geprüft.

7) Gelatine und Agar mit 1—3—7 Trimethyl —2—6 Dioxypurin (Koffein).

Zusatz: 0,1 Proz., 0,2 Proz., 0,3 Proz., 0,4 Proz. und 0,5 Proz. in wenig Wasser gelöst.

Auf den mit Koffein versetzten Nährsubstraten war das Wachstum ein recht langsames; nach etwa 6—8 Tagen wurden an verschiedenen Stellen der Schrägöhrchen farbloswasserklare, schleimigfadenziehende, kleine Kolonien sichtbar, die sich nach und nach etwas vergrößerten, die aber erst nach wochenlangem Wachstum soweit gediehen waren, daß sie als zusammenhängende Rasen größere Flächen des Röhrchens überzogen.

Die auf dem mit 0,1—0,2 Proz. Koffein versetzten Nährboden gewachsenen Organismen unter dem Mikroskop im gefärbten Präparat betrachtet, boten eine mannigfache Formverschiedenheit dar.

In der Hauptsache fanden sich außerordentlich vergrößerte, gerade schmale Stäbchen, daneben auch solche, die leicht gebogen oder einseitig gebuckelt waren.

Zwischen diesen einfachen Formen waren eingestreut Stäbchen, die an einem Ende eine keulenförmige Anschwellung besaßen; ganz vereinzelt stieß man auch auf typisch verzweigte Y-Formen, und zwar waren die drei Verzweigungsglieder alle gleichgroß; alle Formen zeigten eine ausgeprägte Plasmadifferenzierung, d. h. die Beschaffenheit des Zellinhaltes hatte eine Änderung erfahren; während die Bakterien als solche die Farbe nur schwach angenommen sah man in ihrem Innern kugelförmige Einschlüsse intensiv gefärbt; in der Regel befanden sich diese scharfbegrenzten Plasmakügelchen an jedem Ende, in einzelnen Fällen auch zu mehreren verstreut über den ganzen Organismus.

Die auf dem 0,3-proz. Nährboden gewachsenen Mikroben bestanden fast ausschließlich aus typisch verzweigten Formen; waren diese auch durch eine gewisse Regelmäßigkeit der Gestalt ausgezeichnet, so fanden sich auch Übergänge mancherlei Art.

Vorherrschend waren die Formen, bei denen die Verzweigungsäste gerade und alle von derselben Größe waren; bei einzelnen dieser typischen Formen erschien ein Ast auch noch leicht gebogen; nicht selten sah man auch solche Organismen, die an dem 2 bis 3mal vergrößerten Hauptstamm zwei kleine Gabelungen besaßen; ferner konnte man Stäbchen finden, die an dem einen Ende eine kolbenförmige Verdickung trugen.

Betrachtete man diese Formen genauer, so drängte sich einem unwillkürlich die Ansicht auf, als hätte man es hier mit Vorstufen der Verzweigungen zu tun; einzelne dieser keulenförmigen Stäbchen zeigten nämlich an dem verdicktem Ende eine mehr oder weniger tiefe Einbuchtung, bei anderen waren die beiden abgeschnürten Enden schon etwas größer geworden und ließen in denselben

9*

deutlich je ein stärker gefärbtes kugelförmiges plasmatisches Gebilde unterscheiden.

Neben diesen verzweigten Formen konnte man auch einfache, vergrößerte, gerade Stäbchen wahrnehmen, vereinzelt auch solche, die eine starke Krümmung aufwiesen.

Ein Ausstrichpräparat eines 0,4-proz. Koffein enthaltenden Röhrchens bot im allgemeinen dasselbe Bild das; nur waren die kurzgabeligen Formen im Überschuß vorhanden.

Das Wachstum war ein recht spärliches. Wurden die Röhrchen mit 0,5-proz. Koffein versetzt, so erwiesen sie sich als vollkommen ungeeignet zur Züchtung der Bakteroiden, sie blieben nach der Beimpfung steril.

Da auf den vorerwähnten Koffeinsubstraten das Wachstum der Knöllchenbakterien nur recht spärlich und langsam vor sich ging, so wurden weiterhin Versuche angestellt, durch Zugabe von Eiweiß (5 Proz. Sanatogen oder Roborator) die bakteroidenbildende Eigenschaft des Koffeins mit der wachstumsfördernden des Eiweißes zu kombinieren, um recht günstige Entwicklungsbedingungen zu schaffen; es zeigte sich aber dabei das interessante Ergebnis, daß die Eiweißzugabe dem Koffein die formunggestaltende Wirkung auf die Bakterien vollkommen genommen hatte, denn die ausgesäten Stäbchen gediehen auf diesem Nährboden als solche sehr üppig; verzweigte Formen kamen in keinem Falle zur Beobachtung.

Nachdem es mit diesen Versuchen zum ersten Mal gelungen war, auf festen Koffeinboden als Stäbchen ausgesäte Organismen stets als Bakteroiden zu züchten, — die früheren Forscher sprechen nur immer von gelegentlichen Beobachtungen — ging natürlich das Bestreben dahin, die Bakteroiden als solche weiter zu züchten; freilich verliefen diese Versuche vollkommen ergebnislos.

Da die auf 0,3-proz. Nährboden, der sich als der geeignetste erwiesen, gewachsenen Bakteroiden auf 0,3-proz. weitergeimpft, nicht angingen, so wurde versucht, die Bakteroiden allmählich an das Koffein zu gewöhnen; es wurde von 0,1-proz. Boden auf 0,2-proz. weitergeimpft; von 0,2-proz. auf 0,3-proz. und so fort, aber in keinem Falle war irgendwelches Wachstum zu bemerken; die Röhrchen blieben alle steril.

Impfte man dagegen von Koffeinnährböden auf normalen Leguminosenagar weiter, so entwickelten sich auf diesem die Bakteroiden als Stäbchen und letztere wuchsen dann, zurück auf Koffeinböden gebracht, als typisch verzweigte Formen weiter.

Anschließend hieran wurden zwei weitere Methylxanthine:

3—7—Trimethyl—2—6—Dioxypurin (Theobromin) u. 1—3 Dimethyl—2—6—Dioxypurin (Theophyllin)

auf ihre formverändernde Fähigkeit geprüft, indem 0,1 Proz. 0,2 Proz. 0,3 Proz. u. 0,4 Proz. Agar und Gelatine hergestellt wurden.

Beide Körper zeigten ein einheitliches Verhalten.

Auf den wenig Theobromin- resp. Theophyllin enthaltenden Nährsubstraten (bis 0,2 Proz.) setzte ein gutes Wachstum mit Schleimbildung ein; die ausgesäten Stäbchen wuchsen als solche weiter, und färbten sich gleichmäßig im Ausstrichpräparat. Wurde der Zusatz gesteigert, so sistierte jegliches Wachstum; die Röhrchen blieben steril.

Weiterhin wurde neben diesen drei Oxydationsprodukten der Harnsäure diese selbst zu den Versuchen herangezogen und zwar als 0,1-proz. 0,2-proz. 0,3-proz. u. 0,4-proz. Zusatz zu Agar und Gelatine.

Die wasserunlösliche Harnsäure wurde durch Li_2CO_3 in Lösung gebracht, indem zu 0,5g Li_2CO_3 , welches in 48 ccm kochenden Wassers gelöst war, 2 g Harnsäure zugegeben wurde. (2,5 ccm Lösung = 0,1 g Harnsäure).

Zur Kontrolle wurden auch Lith. carb. (0,02—2 Proz.)-Nährboden hergestellt; auf diesen Nährsubstraten wuchsen nur normale Stäbchen.

Auf den Harnsäureböden setzte 3 bis 4 Tage nach der Aussaat gutes Wachstum und reichliche Schleimbildung ein.

Die bis 0,2 Proz. Harnsäure enthaltenden Nährsubstrate enthielten nur gewöhnliche, gut färbbare Stäbchen, auf den höher prozentigen (0,3 u. 0,4-proz. Nährböden waren dünne verlängerte Stäbchen gewachsen, die die Farbe schwer und ungleichmäßig annahmen. Die Konturen waren schwach sichtbar, dagegen waren die in den Bakterienleibern liegenden Plasmakügelchen stark gefärbt. In der Mehrzahl waren diese schmal, schlank, Stäbchen gerade, daneben kamen auch vereinzelte gebuckelte vor, typisch verzweigte Formen fehlten. Wohl sah man ab und zu auch Formen, die an einem Ende schwach keulenförmig angeschwollen waren und bei genauer Betrachtung kleine Einbuchtungen an den angeschwollenen Stellen zeigten, also gewissermaßen Vorstufen der Y-Formen darstellten.

Ein weiterer der Harnsäure verwandter Körper,
das 2 — Amid o — 6 — O x y p u r i n = G u a n i n ,
wurde als 0,1-proz. und 0,2-proz. Zusatz auf seine Einwirkung auf Knöllchenbakterien untersucht.

Da Guanin sehr schwer wasserlöslich ist, wurde es feinst verrieben und unter Zusatz von etwas Gummipulver mit wenig Wasser angerieben dem Nährboden kurz vor dem Erstarren zugegeben.

Das Wachstum auf der Gelatine war ein recht kümmerliches; es hatten sich außerordentlich dünne und lange Stäbchen gebildet; die Organismen waren dem Farbstoff nur wenig zugänglich; auf der mit 0,2-proz. Guanin versetzten Gelatine fanden sich auch Stäbchen, die z. T. gekrümmt und an einem Ende schwach kolbenförmig angeschwollen waren, ohne indes Einbuchtungen zu zeigen.

Den Schluß dieser Reihe von Untersuchungen machten die Versuche, die mit einem Agar resp. Gelatine angestellt wurden, der als Zusatz 0,1-proz. 0,2-proz. u. 0,3-proz. I m i d o h a r n s t o f f (Guanidin) in Form des leichtlöslichen Nitrates enthielt.

Die Beigabe von Guanidin wirkte in keinerlei Weise hemmend auf das Wachstum der ausgesäten Bakterien; sie gediehen sehr üppig und produzierten eine große Menge Schleimes von eigenartig milchigweißer Farbe.

Die gewachsenen Stäbchen waren außerordentlich dünn und lang und ließen sich mit Karbolfuchsin nicht gut färben; die Konturen waren nur ganz schwach angedeutet, dagegen waren die Plasmakügelchen stark tingiert.

Verzweigte Formen kamen nicht zur Beobachtung.

Überblicken wir nun nochmals kurz die Versuche, die angestellt wurden, um Bakteroiden der Knöllchenorganismen künstlich auf festen Nährböden zu züchten, so sehen wir, daß weder die Darreichung von Säuren, noch von größeren Eiweißmengen noch von Kohlehydraten im Stande ist, eine Gehaltsveränderung der ausgesäten Stäbchenform hervorzurufen, daß vielmehr nur bestimmten Eiweißabbauprodukten resp. deren Verwandten diese Fähigkeit zukommt, am ausgeprägtesten dem Trimethylxanthin.

Können wir dies nun mit den natürlichen Verhältnissen in Einklang bringen?

Keimt ein Leguminosenpflänzchen, so ernährt es sich vorerst eine Zeitlang von den im Endosperm angehäuften Nährstoffen; sind diese jedoch aufgebraucht, so ist es darauf angewiesen, seinen Nahrungsbedarf aus dem Erdboden zu decken.

Fehlen dem Boden gewisse, zum Gedeihen der Pflanze unumgänglich notwendige Mineralstoffe (in diesem Falle Salpeter) so stellt sich bei der Pflanze Stickstoffhunger ein.

Die Pflanze leidet jetzt an Unterernährung. Die Folge davon ist, daß jetzt der Eiweißumsatz in anderer Weise verläuft, als bei der normal ernährten Pflanze, und daß die Pflanze äußerlichen, schädlichen Einflüssen gegenüber bedeutend weniger widerstandsfähig ist.

In die derart geschwächte Pflanze — wir sehen, daß die auf fetten Boden wachsenden Leguminosen meist knöllchenfrei bleiben und daß, wenn Knöllchenbildung wirklich statthat, die eingedrungenen Mikroorganismen ihre Stäbchenform beibehalten und wirkungslos bleiben, denn nach den Untersuchungen von Nobbe u. Hiltner beginnt die Stickstoffassimilation erst nach der Ausbildung der Bakteroiden — wandern nun die Knöllchenbakterien in Stäbchenform mittelst der Wurzelhaare in die Wurzelrinde ein, ob hierbei ein chemotaktischer Reiz eine Rolle spielt, ist noch nicht genügend erklärt und üben hier als Fremdkörper formative Reizwirkung aus. Sie regen das Rindenparenchym zur lebhaften Zellteilung an, es entstehen die Knöllchen; gleichzeitig kommen die eingedrungenen Stäbchen mit den bei dem gestörten Stoffwechsel entstehenden niederen Eiweißabbauprodukten — Xanthenen — in Berührung und erleiden durch diese eine Umwandlung in Bakteroiden, die dann durch Zuführung ihrer stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukte die Pflanze mit der zum Weitergedeihen notwendigen Menge Stickstoff versorgen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich in folgende Schlußsätze zusammenfassen:

a) Nährsubstrat, Wachstum.

Die Knöllchenbakterien gedeihen sowohl auf Leguminosenagar wie -Gelatine.

AnStelledes Leguminosenabsuds kann mit gleich gutem Erfolge tierisches oder pflanzliches Eiweiß (Sanatogen, Roborat 1-Proz. — 2 Proz.) verwendet werden.

Bezüglich der Reaktion des Nährsubstrates sind die Knöllchenbakterien wenig empfindlich; diese kann zwischen leicht sauer (10 ccm $\frac{n}{i}$ Säure auf ein Liter) und leicht alkalisch schwanken, ohne daß dadurch das Wachstum beeinträchtigt würde.

Die einzelnen Kolonien wachsen wenig charakteristisch; sie sind halbkugelig erhaben, tropfenförmig und von weißlicher Farbe; bei üppigem Wachstum überzieht sich die Oberfläche der Röhren mit einem spermaähnlichen, schleimigen Belage.

Die Organismen gedeihen am besten bei 18°–20°; nicht mehr unter 3° und über 45°; durch 5 Minuten langes Erwärmen auf 60°–62° werden sie abgetötet.

b) Form, Beweglichkeit, Färbbarkeit.

Die Knöllchenbakterien stellen lebhaft bewegliche, peritriche Kurzstäbchen dar; sie lassen sich gut mit basischen Anilinfarben färben, besonders intensiv mit Karbolfuchsin.

Der Gram'schen Färbung gegenüber verhalten sie sich negativ; in gewissem Grade sind sie säurefest.

c) Biologische Leistungen.

Die Knöllchenbakterien zersetzen sehr langsam Kohlehydrate unter schwacher Säurebildung; sie fällen aus Milch das Kasein.

Sie reduzieren Farbstoffe zu farblosen Leukoprodukten, selenigsaure Salze zu ziegelrotem metallischen Selen, ferner salpetersaure Salze zu salpetrigen Säuren.

Sie bilden kein Indol.

d) Pathogenität.

Die Knöllchenbakterien sind nicht tierpathogen.

e) Artenheit oder -verschiedenheit.

Die Knöllchenbakterien sind nicht Varietäten ein und derselben Spezies, sondern stellen verschiedene, scharf voneinander getrennte Arten dar; inwieweit innerhalb dieser Arten verwandtschaftliche Verhältnisse bestehen, ist zur Zeit noch nicht genügend geklärt.

f) Bakteroiden.

Die Bakteroiden der Knöllchenbakterien sind keine Degenerationerscheinungen, sondern lebenskräftige, besondere Wuchsformen mit bestimmten biologischen Leistungen.

Sie lassen sich als solche nur aus der Stäbchenform züchten und gehen dann, weiter verimpft, zur Stäbchenform zurück. Hierfür spricht, daß, im Gegensatz zu den Involutionsformen anderer Bakterien, die meist als degenerative Prozesse aufzufassen sind, die vom Verfasser dieser Arbeit zum ersten Male auf festen Nährsubstraten regelmäßig gezüchteten Bakteroiden nach Übertragung auf normale Nährböden in die ursprüngliche Mutterform zurückgeführt werden konnten und somit durchaus lebenskräftig und wachstumsfähig waren.

Da ferner aus den zurückgebildeten Stäbchenformen je nach Wunsch durch Übertragung auf andere Nährböden aufs neue Bakteroiden gewonnen werden konnten, die dann auch ihrerseits sich regelmäßig als rückverwandlungsfähig erwiesen, so muß notwendigerweise gefolgert werden, daß man es hier

mit einer besonderen Wuchsform, nicht mit einer Degenerationsform zu tun hat, die dazu bestimmt ist, den Stickstoff, den die Pflanze in Wasser gelöst aufnimmt, in eine für Ernährungszwecke verwertbare Form zu bringen.

Besteht diese Anschauung zu Recht, so darf es uns nicht Wunder nehmen, daß Bakteroiden als solche sich nicht weiter züchten lassen, auch dann nicht, wenn man sie auf einen Nährboden verimpft, auf dem sie erstmalig aus der Stäbchenform gewachsen, weil mit ihrer Bildung die Aufgabe der Stäbchen in den Knöllchen erfüllt ist.

Literatur.

- Beijerinck, Botan. Zeitg. Bd. 46. 1888.
 —, Ibid. Bd. 48. 1890.
 Boussingault, Compt. rend. Paris. T. 38, 39. 1854.
 Brunchorst, Ber. d. d. botan. Gesellsch. III. 1885.
 Buchanan, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 22.
 Buhlert, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 9.
 Candolle, de, Prodr. 1825. Pars II.
 Déchamps, Historia generalis plantarum. 1586.
 Eriksson, Referat: Botan. Zeitung. 1884.
 Flüge, Die Mikroorganismen.
 Frank, Ber. d. d. botan. Gesellsch. Bd. 5, 6, 7.
 —, Botan. Zeitung. 1879.
 —, Landw. Jahrb. Bd. 19. 1891.
 Gonnermann, Landw. Jahrb. Bd. 23. 1894.
 Hellriegel, Tagebl. d. 59. Vers. d. Naturforsch. u. Ärzte. Berlin 1886.
 — u. Wilfarth, Beilageheft z. d. Ztschr. d. Ver. f. d. Rübenzucker-Ind. f. d. R. 1888.
 Harrison-Barlow, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 19.
 Hartleb, Chemiker-Zeitg. Bd. 23. 1900.
 Hiltner, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 6.
 —, Lafar, Handb. d. techn. Mykol. Bd. 3.
 — u. Störmer, Arb. a. d. biol. Abt. d. G. A. 1900. 1903.
 Kellermann u. Beckwith, Referat: Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 16.
 Kirchner, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz. Bd. 7.
 Kny, Botan. Zeitung. 1879.
 Kolaczek, Lehrb. d. Botanik. 1856.
 Lachmann, Centralbl. f. Agrik.-Chem. Bd. 20. 1891.
 Laurent, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1892.
 Lehmann-Neumann, Bakteriologie. Bd. 1.
 Löhnis, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 14.
 —, Handbuch d. landw. Bakteriologie. 1910.
 Maassen u. Müller, Mitteil. a. d. kais. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. 1906.
 Malpighi, Opera omnia anatomia plant. p. sec. de gallis. 1687.
 Mazé, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1897, 1899.
 Migula, System der Bakterien.
 Neumann, Landw. Versuchsstat. 56.
 Nobbe, Landw. Versuchsstat. 1868.
 — u. Hiltner, Landw. Versuchsstat. 1892.
 Prazmowski, Botan. Centralbl. 1889.
 —, Landw. Versuchsstat. 1890.
 Peklo, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 27.
 Prillieux, Bull. soc. bot. France. 1879.
 Rodella, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 18.
 Rossi, de, Annali di Botanica. Vol. 7. Fasc. 4; Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 18.
 Schindler, Botan. Centralbl. 1884.
 Simon, Jahresber. d. Ver. f. angew. Botanik. V. 1907.

- Süchting, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 11.
 Stefan, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 16.
 Stutzer, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 7.
 Treviranus, Botan. Zeitung. 1853.
 Tschirch, Ber. d. d. botan. Gesellschaft. 1887.
 Vries, de, Landw. Jahrb. 1877.
 Woronin, Referat: Botan. Zeitung. 1866.
 Zinsser, Inaug.-Dissert. Leipzig 1897.

Nachdruck verboten.

Zur Entwicklungsgeschichte von Endophyllum Sempervivi.

Von A. W. Hans Hoffmann.

Mit 2 Tafeln und 14 Textfiguren.

Die Vertreter der Rostpilzgattung *Endophyllum* zeichnen sich vor allen anderen Uredineen durch ihren eigentümlichen Entwicklungsgang aus. Außer den Spermogonien mit den Spermastien treten bei ihnen nur Aecidiosporen und Sporidien auf. Die Aecidiosporen entstehen in großen, mit Pseudoperidie versehenen Aecidien und funktionieren wie Teleutosporen. Sie keimen mit einem Promycel, das meist vier, seltener mehr oder weniger Sporidien trägt. Ob man daher von Aecidiosporen sprechen soll, wie ich es oben getan habe, darüber ist bisher Einigkeit nicht erzielt. In der Systematik wird entweder auf die Entstehung oder auf die Funktion der Spore der größere Wert gelegt und dementsprechend wird die Spore von *Endophyllum* bald Aecidiospore, bald Teleutospore genannt. In der älteren Zeit gab man dem Namen Aecidiospore den Vorzug (de Bary, 1884). In neueren Werken wird in Anlehnung an Dietels Bearbeitung der Uredineen in Engler-Prantls Pflanzenfamilien (1900) die Bezeichnung Teleutospore durchgehends gebraucht.

Zur Gattung *Endophyllum* gehören nur wenige Arten. Paul Hariot (1908) gibt die umfassendste Aufstellung unter Berücksichtigung auch der früher zur Gattung *Endophyllum* gerechneten Rostpilze und zählt folgende sechs Arten auf: 1) *Endophyllum Centranthi rubri* Poirault, 2) *E. Sedi* (D. C.) Lév., 3) *E. Sempervivi* Lév., 4) *E. Sempervivi* var. *aecidioides* R. Maire, 5) *E. Valerianae tuberosae*, 6) *E. Euphorbiae silvaticae* (D. C.) Winter.

Über *Endophyllum Centranthi rubri* Poirault habe ich keine Originalliteratur nachlesen können. Den Namen dieser Art habe ich sonst nirgends erwähnt gefunden; die Art selbst kommt nur sehr selten vor. Die Sporen von *Endophyllum Sedi* und *Endophyllum Sempervivi* var. *aecidioides* verhalten sich wie typische Aecidiosporen. Ihre Keimschläuche bringen also bei der Keimung kein Promycel mit Sporidien hervor, infizieren auch die Wirtspflanze nicht, auf der sie entstanden sind. Es lag daher die Vermutung nahe, die beiden Arten könnten als Aecidien in den Entwicklungskreis einer heteröcischen *Puccinia* gehören. Und in der Tat ist für *Endophyllum Sedi* der Zusammenhang mit *Puccinia longissima* Schröter von Bubák (1902) nachgewiesen worden. Die zu *Endophyllum Sempervivi* var. *aecidioides* — höchstwahrscheinlich — gehörende Teleutospore ist noch nicht gefunden worden. R. Maire (1900) hat diese Varietät im Jahre 1898 aufgestellt und sie wegen der Übereinstimmung in der Entstehung und äußeren Gestalt ihrer Sporen mit denen des typischen *Endophyllum Sempervivi* der letztgenannten Art angegliedert. Die Vermutung,

daß *Endophyllum Sempervivi* var. *aecidioides* ebenso wie *E. Sedi* das *Aecidium* einer *Puccinia* darstellen könnte, findet sich bei *Maire* (1900) noch nicht. Von den oben aufgezählten Arten bleiben nun noch drei übrig. Auf sie allein trifft die Charakterisierung, die für die Gattung *Endophyllum* auf Seite 1 aufgestellt wurde, zu. Am besten bekannt sind *Endophyllum Sempervivi* und *E. Euphorbiae silvaticae*.

Endophyllum Euphorbiae silvaticae ist zuerst von *L. R. Tulasne* (1854) eingehender studiert worden. Er erkannte, daß die Sporen dieses Rostpilzes zwar in einem *Aecidium* entstehen und äußerlich wie *Aecidiosporen* aussehen, aber bei der Keimung ein Promycel mit Sporidien bilden. Er trennte deshalb diese Art von *Aecidium Euphorbiae* ab und stellte sie zu *Endophyllum*. Dieselbe Form ist später von *Sappin-Trouffy* (1896) auch cytologisch untersucht worden. Er bestätigt die Angaben von *Tulasne* und stellt fest, daß das Mycel des Pilzes aus einkernigen Zellen besteht, daß dann zweikernige Zellen auftreten, die zweikernige Sporenmutterzellen abschnüren, und daß diese in Spore und Zwischenzelle zerfallen. Die Kernpaare teilen sich dabei konjugiert. Die beiden Kerne in der *Aecidiospore* sollen nach ihm nicht verschmelzen. Die Angabe ist um so eigenartiger, als er einige Jahre früher mit *Dangeard* (1893) zusammen nachgewiesen hatte, daß bei einer Anzahl von Rostpilzen eine Verschmelzung der beiden Kerne in der Teleutospore erfolgt. Es hätte nahe gelegen, eine Kernverschmelzung auch in diesem Falle zu vermuten. *Sappin-Trouffy* (1896) ist aber der Meinung, daß die Kerne ohne zu verschmelzen nach einander aus der Spore in das Promycel einträten, sich teilten und daß dann durch Wandbildung die vier Zellen des Promycels entstanden. Ich habe *Endophyllum Euphorbiae silvaticae* nicht prüfen können, bin aber auf Grund meiner Untersuchungen an der am besten bekannten Form unter den zu *Endophyllum* gehörenden Rostpilzen, nämlich *E. Sempervivi*, zu der Meinung gekommen, daß die Angaben *Sappin-Trouffys* unrichtig sind. Der Entwicklungsgang dieses Pilzes und seine Wirkungen auf die Wirtspflanze sind von *de Bary* (1863) eingehend untersucht worden. Seine Resultate bedürfen keinerlei Berichtigung. Die cytologischen Verhältnisse studierte *Maire* (1900). *Sappin-Trouffys* Anschauungen über *Endophyllum Euphorbiae silvaticae* (1896) übertrug er auf *E. Sempervivi*. Die reife *Aecidiospore* habe zwei Kerne, die keine Fusion eingingen, sondern getrennt und nacheinander ins Promycel einträten; dort teile sich jeder und so entstanden die Kerne für die vier Sporidien. Die Keimschläuche der Sporidien sollen nicht bloß an beliebigen Stellen die Außenwand der Epidermis durchbohren, sondern auch durch Spaltöffnungen in den Wirt eindringen, was *de Barys* (1863) Beobachtungen widerspricht. Die erste Anlage eines *Aecidiums* ist ein Knäuel einkerniger Hyphenzellen. Die Endzellen der Hyphen sollen durch eine Kernteilung ohne Wandbildung zweikernig werden. Die Entstehung der Sporenmutterzellen durch Zellteilung in Verbindung mit konjugierter Kernteilung und die Teilung der Sporenmutterzellen in Spore und Zwischenzelle sowie die Bildung der Pseudoperidie sind richtig beobachtet. Auf Grund seiner Beobachtungen kommt *Maire* (1900) zu dem Resultat, daß bei *Endophyllum* im Zusammenhang mit dem Fehlen der Kernverschmelzung in der Teleutospore auch die Reduktionsteilung ausbleibe. *Blackman* (1904) diskutiert *Maires* An-

siehten und vergleicht den Fall von *Endophyllum* mit der bei höheren Pflanzen vorkommenden Aposporie.

In der Arbeit über die Kernentwicklung bei den *Endophyllum*-species stellt Maire (1900) noch eine neue Art auf, das *Endophyllum Valerianae tuberosae*. In seiner Beschreibung dieser Form fällt am meisten auf, daß in der anfangs zweikernigen Aecidiospore der eine Kern bald degenerieren und schließlich verschwinden soll. Die einzelnen Stadien des Degenerationsprozesses soll man von der Basis zum Gipfel der Sporenkette vorschreitend leicht verfolgen können. Auf diese Weise käme die Einkernigkeit der reifen Aecidiosporen zustande. Derselbe Degenerationsprozeß tritt nach den Angaben des Verfassers in den Zwischenzellen und den Zellen der Pseudoperidie auf. Bei der Keimung wandere der eine Kern in den Keimschlauch, teile sich dort und es entstünden durch Einschiebung einer Wand zwei einkernige Zellen. Dann soll in der Regel der Kern der unteren Zelle degenerieren und verschwinden. Die obere Zelle soll ein Sterigma und daran eine Sporidie hervorbringen, in die der eine Kern einwandere. Maire will auch noch eine Modifikation beobachtet haben: Die obere Zelle des Keimfadens soll sich noch einmal teilen, die Kerne der beiden nächst der Spore gelegenen Zellen sollen degenerieren und nur die äußerste eine Sporidie treiben.

Seit Blackmans (1904) und Christmans (1905, 1907) erfolgreichen Untersuchungen über die Sexualität der Uredineen hat die Entwicklungsgeschichte der verschiedenen *Endophyllum*arten von neuem an Interesse gewonnen. Maires Beobachtungen (1900) stimmen gar zu wenig mit den bisherigen neuen Resultaten überein. Eine Neuuntersuchung erscheint daher gerechtfertigt. Da bei Berlin allein *Endophyllum Sempervivi* vorkommt, habe ich versucht, den Entwicklungsgang dieser Art darzulegen.

Untersuchungsmethoden.

Mein Material von *Endophyllum Sempervivi* stammt aus dem Garten der hiesigen Landwirtschaftlichen Hochschule und wurde im Universitätsgarten weitergezogen.

1) Kultur. Reife Sporen von *Endophyllum* wurden auf abgeschnittene Blätter von *Sempervivum tectorum* mit einer feuchten Lanzette aufgetragen und unter einer Glasglocke in feuchter Atmosphäre gehalten. Zur mikroskopischen Untersuchung der gekeimten Sporen im lebenden Zustande wurde nach 8 bis 24 Stunden mit der Lanzette ein Stück Epidermis abgezogen und auf dem Objektträger mit Wasser benetzt. Das Deckglas wurde vorsichtshalber an einer Seite durch Fließpapier gestützt und verdunstetes Wasser durch frisches ersetzt. Um jedes Jahr frisches Material zur Verfügung zu haben, infizierte ich gesunde Exemplare von *Sempervivum tectorum* mit reifen Sporen, indem ich mit einer feuchten Lanzette Einstiche in geöffnete Aecidien machte und die herausgehobenen Sporenhäufchen auf benetzte Blätter der Wirtspflanze übertrug. Die Impfung erfolgte in der Regel gegen Abend, weil bei Tage durch die Sonnenwärme die Sporen und Promycelien leicht vertrocknen.

2) Fixierung. Es wurden ungeöffnete Aecidien und Spermogonien, reifende und geöffnete Aecidien mit keimenden Sporen und reife, im Aecidium schon gekeimte Sporen allein fixiert. Blattstückchen mit jungen Aecidien und Spermogonien wurden in Juel'sche Flüssigkeit (20 g ZnCl_2 + 20 ccm Eisessig + 960 ccm Alkohol von 50 Proz.) getan und die Luft ausgepumpt.

Nach dem Auswaschen der Fixierungsflüssigkeit mit 50-proz. Alkohol, bis Geruch nach Essigsäure nicht mehr wahrgenommen werden konnte, wurde das Material durch die verschiedenen Alkohol- und Xylolstufen in reines Xylol übergeführt. Nach Zusatz von Paraffin vom Schmelzpunkt 54° C kam das Material zuerst auf, dann nach weiterem Zusatz von Paraffin in den Ofen und wurde in der üblichen Weise allmählich eingebettet. Die mit J u e l-scher Flüssigkeit fixierten Aecidien ergaben beim Färben die besten Resultate und wurden deshalb zur Untersuchung bevorzugt. Die Schnittdicke betrug 5 μ .

Auch mit Chrom-Essigsäure (CrO_3 10 g + 15 ccm Eisessig + 1000 ccm H_2O) versuchte ich zu fixieren. Nach dem Auspumpen der Luft wurde 8—24 Stunden lang in fließendem Wasser ausgewaschen, mit Alkohol von steigender Konzentration (25 Proz., 30 Proz., 35 Proz., 40 Proz., 50 Proz. und so fort bis zum absoluten Alkohol) entwässert und in der eben beschriebenen Weise eingebettet. Diese Fixierungsmethode wurde aufgegeben, als sich zeigte, daß die J u e l-sche Flüssigkeit besser fixierte.

Um bei der Fixierung reifender und geöffneter Aecidien Materialverluste zu verhüten, wurde folgendes Verfahren angewandt. Aus Scheiben 2-proz. Agars in erkaltetem Zustande wurden Stückchen herausgeschnitten, so daß kleine Gruben entstanden. In diese legte ich pilzbefallene Blattstückchen und übergieß sie mit noch flüssigem, nicht zu warmem Agar. Nach dem Erstarren des Agars wurden die Scheiben zerschnitten und die Agarstückchen mit dem darin befindlichen Material in J u e l-scher Flüssigkeit fixiert. Die weitere Behandlung erfolgte in der oben beschriebenen Weise.

Sollten reife und im Aecidium gekeimte Sporen allein fixiert werden, so wurden sie portionsweise mit Hilfe einer Lanzette in ein mit J u e l-scher Flüssigkeit gefülltes Zentrifugengläschen eingetragen. Nach mehrstündigem Verweilen des Materials in der Fixierungsflüssigkeit wurde zentrifugiert und die Flüssigkeit allmählich durch Alkohol ersetzt. Um Sporen mit Promycelien und Sporidien auf dem Objektträger zum Haften zu bringen, wandte ich verschiedene Verfahren an, von denen das folgende die besten Resultate ergab. Auf einen Objektträger wurde 3-proz. Gelatine dünn aufgestrichen und aus einer Pipette ein Tropfen Alkohol mit Sporen darauf getan. Der Alkohol breitet sich schnell aus, während die Sporen ziemlich dicht beieinander liegen bleiben. Nach Entfernung des überflüssigen Alkohols mit Fließpapier läßt man das Präparat etwas antrocknen und stellt den Objektträger vorsichtig auf eine Stunde in eine 1-proz. Formalinlösung. Die Sporen haften dann auf der festgewordenen Gelatine, so daß man den Objektträger ohne Schaden im Wasser hin- und herschwenken kann. Manche Präparate wurden 12 Stunden lang gewässert, ohne daß ein Verlust an Sporen zu bemerken war. Die Vorbehandlung mit Formalin hat den Nachteil, daß sie die Färbbarkeit etwas beeinträchtigt. Außer 3-proz. reiner Gelatine wurden auch Glyzerin-gelatine und Eiweiß zum Aufkleben benutzt. Statt die Objektträger in eine 1-proz. Formalinlösung zu tun, kann man sie auch Formalindämpfen aussetzen.

3) F ä r b u n g. Zur Färbung eignete sich am besten das H e i d e n - h a i n-sche Eisenhaematoxylin. Die Präparate wurden mit wässriger 3-proz. Eisenammoniakalaunlösung zehn Minuten lang gebeizt und darauf in wässriger, 0,5-proz. Haematoxylinlösung 15 Minuten gefärbt. Die Differenzierung geschah unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung mit wässriger, nur $1\frac{1}{2}$ -proz. Eisenammoniakalaunlösung ungefähr 3—4 Minuten lang. Dann wurde 10—20 Sekunden mit Eosin-Nelkenöl gegengefärbt. Das über-

schüssige Eosin-Nelkenöl wurde mit Xylol weggespült und die Schnitte in Kanadabalsam eingeschlossen. Waren die Präparate mit Formalin vorbe-handelt, so mußten sie mit Eisenalaun 20 Minuten gebeizt, in Haematoxylin 20—30 Minuten gefärbt und 3—8 Minuten differenziert werden; die Färbung mit Eosin-Nelkenöl dauerte 7—10 Sekunden. Für die Untersuchung der Gewebe ohne dicke Membranen war auch das etwas modifizierte Flem-m i n g sche Dreifarbenverfahren brauchbar. In Safranin blieben die Präparate in der Regel 5—10 Minuten, mitunter bis zu einer halben Stunde. Differen-zierung mit 96-proz. Alkohol + $\frac{1}{20}$ Proz. Salzsäure währte nur 5—6 Sekunden und die Färbung mit Gentianaviolett 20—30 Sekunden. Nach der Über-führung in absoluten Alkohol wurde mit in ungereinigtem Nelkenöl gelösten Orange G gegengefärbt. Zum Studium der Kerneinheiten ist diese Methode weniger brauchbar als die Heidenhain'sche. Ganz ungeeignet erweist sie sich zur Färbung reiferer Sporen mit schon verdickten Membranen, die durch Gentianaviolett so dunkel gefärbt wurden, daß ihre Kerne unsichtbar blieben.

Die reife Spore und ihre Keimung, untersucht am frischen Material.

Die Sporen von *Endophyllum Sempervivi* reifen im Früh-jahr zwischen Ende März und Anfang Mai. Sie sind ziemlich groß und ein-zellig, bisweilen mit einem kleinen Anhängsel versehen, dem Rest der noch nicht zugrunde gegangenen Zwischenzelle. Jede Spore (Textfigur 1a) be-sitzt ein dickes Endospor und ein netzförmig verdicktes Exospor. Stellt man das Mikroskop auf den Rand der Spore ein, so könnte man glauben,

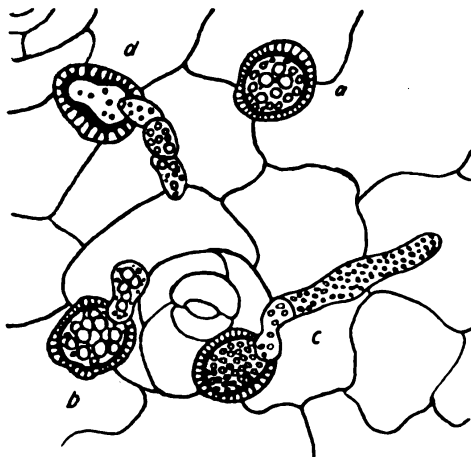


Fig. 1. a) Reife Spore. b) Anfang der Keimung: Keimblase. c) Keimschlauch, einzelliges Promycel. d) Zweizelliges Promycel aus einer Spore.

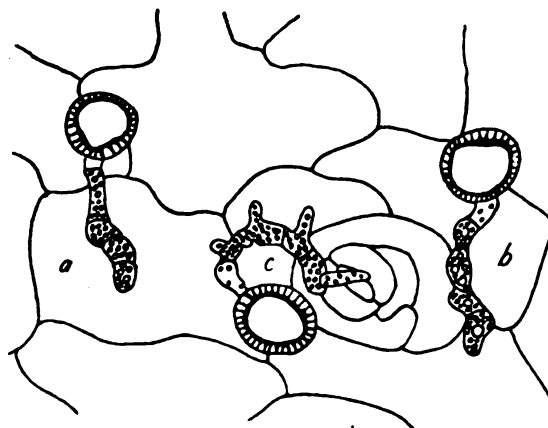


Fig. 2. a) Vierzelliges Promycel. b) Vorwölbung an jeder Zelle als Anfang der Sporienbildung. c) Spore mit Promycel, daran Ausstülpungen, die Sterigmen.

das Exospor bestände nur aus Stäbchen. Das ist aber nicht der Fall. Im Innern der Spore befinden sich größere und kleinere orangefarbene Tröpfchen, die häufig ein in der Mitte der Spore liegendes kugelförmiges Bläschen, den Kern, verdecken. Sein Durchmesser beträgt ein Viertel bis ein Drittel des Sporendurchmessers. Keimporen sind äußerlich nicht wahrnehmbar.

Die Sporen keimen, ohne eine Ruhepause durchzumachen, sofort nach ihrer Reife und zwar unter Umständen selbst bei mäßiger Feuchtigkeit schon in den Aecidien, in denen sie entstanden sind. Zuerst zwingt sich aus der

Spore ein kugel- bis birnenförmiges Gebilde heraus (Textfigur 1b), das sich bald zu einem zylindrischen Keimschlauch, dem Promycel, streckt. Die erste Wand tritt in der Regel nahe der Spore auf (Textfigur 1c). Die Endzelle wird halbiert (Textfigur 1d), und ihre Deszendenten werden wiederum halbiert (Textfigur 2a). Mitunter tritt die erste sichtbare Wand nicht nahe der Spore,

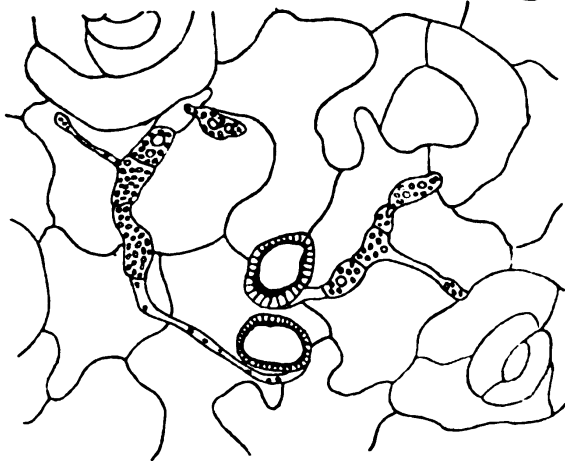


Fig. 3. Promycelien mit fertigen und in der Bildung begriffenen Sporidien.

sondern in der Mitte des Promycels auf. Vielleicht fehlt in diesem Falle die Trennungswand zwischen Sporenolumen und Promycel oder wird durch die Sporenwand verdeckt. Die Promycelzellen führen Protoplasma und orangefarbene Tröpfchen, die die Kerne verdecken. Jede Zelle treibt nun eine kleine Vorwölbung (Textfig. 2b), die sich rasch zu einem Stielchen verlängert (Textfig. 2c), gegen die Spitze hin sich verjüngt und zu einem Bläschen erweitert, in das allmählich fast der ganze Inhalt aus der Zelle einwandert: es ist so an dem Sterigma die Sporidie entstanden (Textfig. 3). Die Sporidien bilden sich nicht an allen Promycelzellen gleichzeitig. Bald können die oberen, bald die unteren Zellen den Bildungsprozeß zuerst vollziehen. Irgendeine bestimmte Entstehungsfolge ist nicht festzustellen. In der Regel werden, den vier Promycelzellen entsprechend, vier Sporidien abgeschnürt. Mitunter entstehen aus einer Zelle zwei und mehr Sporidien. Textfigur 4 zeigt ein Promycel, an dem zwei Zellen je eine, zwei Zellen je drei Sporidien getrieben haben, also im ganzen acht Sporidien

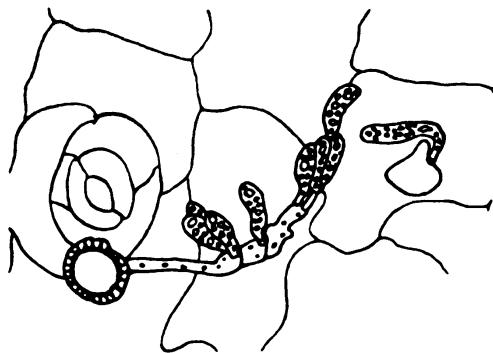


Fig. 4. Promycel mit zweimal je drei Sporidien aus einer Zelle. Keimende Sporidie.

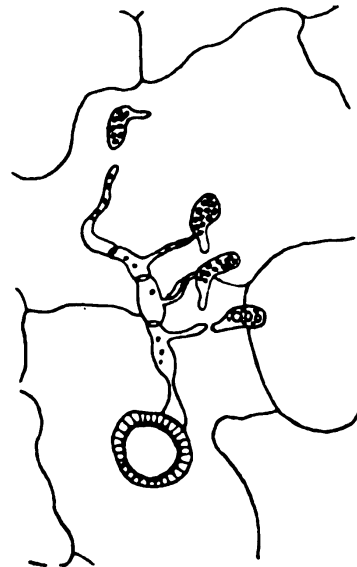


Fig. 5. Promycel mit reifen, z. T. schon abgefallenen Sporidien.

entstanden sind. Auf diese Erscheinung wird später (p. 153) zurückzukommen sein. Sobald die Sporidie reif geworden ist, schließt sich die Verbindungsstelle zwischen ihr und dem Sterigma. Sie trennt sich vom Sterigma (Textfig. 5) und keimt bald darauf.

Der Keimschlauch der Sporidie durchbohrt die Epidermis (Textfig. 6) und dringt auf diese Weise in die Wirtspflanze ein, was bereits de Bary (1863) gesehen hat. Daß der Keimschlauch der Sporidie seinen Weg in die Wirtspflanze durch die Spaltöffnung nimmt, wie Maire (1900) behauptet, konnte ich niemals beobachten. Nach Durchbohrung der Epidermis erweitert sich der Keimschlauch zu einem Bläschen (Textfig. 6), in das der orange-farbene Inhalt der Sporidie hineinwandert. Weiter habe ich die Entwicklung an lebendem Material nicht verfolgt, da bereits de Bary (1863) sie eingehend beschreibt. Er hat gesehen, daß die Keimschläuche der Sporidien, die auch durch die Haare eindringen können, sich verzweigen, die inneren Wände der Zellen durchbohren und in die Interzellularen gelangen. Das Mycel wächst dann ausschließlich in den Interzellularen weiter. Bisweilen dringen haustorienartige Hyphen in die Zellen ein und legen sich um den Zellkern. Das Mycel steigt von der Infektionsstelle durch das Blatt in die Achse hinab, dringt zum Vegetationspunkt vor und infiziert später einige junge Blätter. Im Jahre der Infektion ist an der befallenen Pflanze äußerlich nichts zu merken. Erst im nächsten Frühjahr wachsen einige Blätter schneller als die von gesunden Pflanzen und werden am Grunde gelblich. Nicht alle jungen Blätter einer erkrankten Pflanze werden in dem der Infektion folgenden Frühjahr vom Pilz befallen. Es scheint, als ob der Pilz nur im Anfang des Frühjahrs, wenn die Blätter noch sehr langsam wachsen, mit den in Entwicklung begriffenen

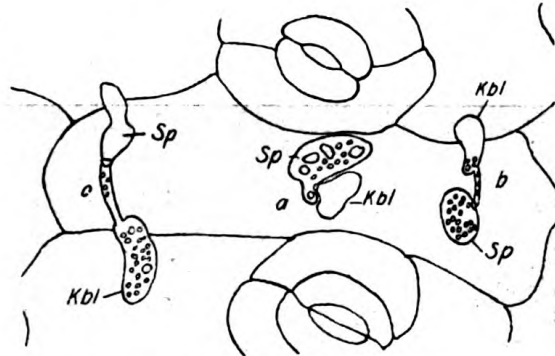


Fig. 6. Keimende Sporidien, Keimblase unter der Epidermisaußenwand. a) Keimblase leer; b) Sporeneinwanderung in die Keimblase.; c) Inhalt fast vollständig in der Keimblase. Sp. = Sporidie, Kbl = Keimblase.

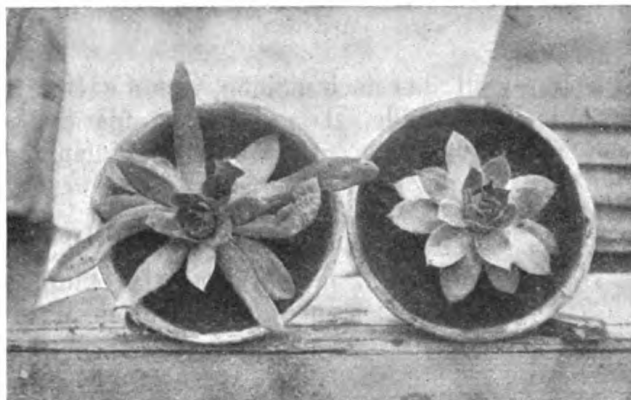


Fig. 7a.

Blättern Schritt halten kann; denn sobald mit zunehmender Temperatur die Blätter anfangen schneller zu wachsen, finden sich im Innern der Blattrosette von *Sempervivum* nur gesunde Blätter (Textfig. 7a, b). Im oberen Drittel eines noch nicht völlig ausgewachsenen, erkrankten Blattes erscheinen (1909 Anfang April, 1910 schon Anfang März) auf beiden Seiten des Blattes, häufiger jedoch auf der Oberseite allein, die Spermatogonien zunächst als kleine gelbe Fleckchen. Nach einigen Tagen sind die Spermatogonien reif und haben mit den Spermarien zusammen ein Flüssigkeitströpfchen entleert. Gleichzeitig mit den Spermatogonien treten — ziemlich gleich häufig

auf beiden Seiten der Blattoberfläche — kleine helle Fleckchen auf, die Anfänge der Aecidien. In einem kalten feuchten Frühjahr entwickeln sich die Aecidien nur langsam und brauchen bis zur Reife der Sporen zwei bis vier Wochen. Unterdessen nehmen die vom Pilz befallenen Blätter noch an Größe zu, oft bis zu mehr als der doppelten Länge der gesunden Blätter (Textfig. 7a u. b). Die Aecidien dehnen sich während des Wachstums nach allen Seiten aus, werden allmählich orangefarben, und bald darauf entsteht über ihrer Mitte in der Epidermis ein kleines Loch, das sich unter dem Druck der Sporen vergrößert. Der Wind trägt die Sporen auf andere Pflanzen, wo sie unter



Fig. 7b.

Die Figuren 7 a u. 7 b zeigen den Unterschied von gesunden und mit *Endophyllum Sempervivi* infizierten *Sempervivum*-pflanzen. Die gesunden Blätter sind klein geblieben die erkrankten in die Länge gewachsen. Die Punkte im oberen Drittel der langen Blätter sind die reifen und geöffneten Aecidien.

günstigen Bedingungen keimen. Der Durchmesser der reifen Aecidien schwankt zwischen $\frac{3}{4}$ und $1\frac{1}{2}$ mm. Setzt man eine infizierte Pflanze unter eine Glocke, dann findet die Keimung der Sporen, wie bereits erwähnt wurde, schon im Aecidium statt. Mäßig stark infizierte Pflanzen sterben schon nach einigen Wochen ab: die jüngsten Blätter faulen am Grunde, auch wenn sie nicht vom Pilz befallen sind. Sind sehr wenig Blätter infiziert, so lebt die Rosette noch längere

Zeit weiter, geht aber nach meinen, von d e B a r y s abweichenden Beobachtungen doch zugrunde, etwa im August oder September. Trotzdem das Mycel in die Achse von *Sempervivum* hineingeht, habe ich infizierte Ausläufer nicht beobachtet.

Untersuchungen am fixierten und gefärbten Material.

Die genaueren Einzelheiten des Entwicklungsganges von *Endophyllum* wurden an fixiertem und gefärbtem Material studiert. Zuerst möge die Entwicklung der

Spermogonien

geschildert werden.

In dem der Infektion folgenden Frühjahr findet man unter der Epidermis der erkrankten Blätter von *Sempervivum tectorum* — am häufigsten auf der Oberseite des Blattes — zunächst kleine Pilzgewebe, hervorgegangen aus Hyphen, die interzellulär wachsend aus dem Innern des Blattes zu seiner Oberfläche vorgedrungen sind. Innerhalb weniger Tage hat dieses Pilzgewebe sich zu dem oft beschriebenen flaschenförmigen Spermogonium entwickelt (Textfig. 8). Aus den einkernigen Mycelzellen am Grunde des Spermogoniums sind Hyphen gegen die Blattoberfläche ausgewachsen, in der Mitte fertile, die Spermatialhyphen, am Rande sterile, die langen, die Blattoberfläche überragenden Periphysen. Die Öffnung des Spermogoniums

erfolgt durch den Druck der wachsenden Periphysen, die anfangs die Spermatialhyphen überdecken, nach der Öffnung des Spermogoniums aber in der aus Textfig. 8 ersichtlichen Weise auseinanderweichen. Schon vor der Öffnung des Spermogoniums beginnen die Spermatialhyphen mit der Bildung der Spermatien. Der Kern der Spermatialhyphe teilt sich, die eine Hälfte wandert in die Spitze der Hyphe, die andere bleibt ungefähr an der Stelle ihrer Entstehung liegen. Einzelheiten der Kernteilung ließen sich bei der Kleinheit des Objektes nicht feststellen. Einiges findet man darüber bei Blackman (1904), Sappin-Trouffy (1896) und R. Maire (1900). Ist ein Spermatium entstanden, so wächst der in der Spermatialhyphe verbliebene Tochterkern wieder heran. Bald darauf wird von der Spermatialhyphe ein neues Spermatium abgeschnürt, und die jüngst entstandenen drängen die älteren Spermatien in die Mitte des Spermogoniums, wo sie ihre volle Reife erreichen. Die Spermatien wachsen nach ihrer Entstehung noch ein wenig und werden zu eiförmigen Gebilden. Sie führen einen Kern, der fast den ganzen Raum ausfüllt, und sehr wenig Protoplasma. Der Kern zeigt deutlich Gerüststruktur; ein Nukleolus ist nicht nachzuweisen. Die reifen Spermatien werden schließlich von den jüngeren nach Öffnung des Spermogoniums aus diesem herausgedrängt und bleiben in der abgesonderten klebrigen Flüssigkeit liegen. Über die Funktion der Spermatien konnte ich nichts feststellen. Einzelne Spermatien gehen schon im Bauch des Spermogoniums bald nach ihrer Entstehung zugrunde, was auch schon Blackman (1904) bemerkt hat.

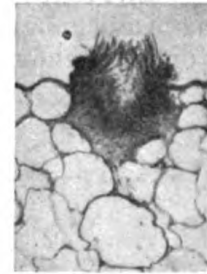


Fig. 8. Geöffnetes Spermogonium mit Spermatien und Periphysen.

Das Aecidium.

1) Die Entwicklung des Aecidiums bis zur Befruchtung.

Führt man einen Schnitt senkrecht zur Blattfläche durch ein ganz junges Aecidium, so sieht man, daß sich die in den Interzellularen wachsenden Hyphen von der Mitte des Blattes gegen eine kreisförmig begrenzte Stelle der Epidermis vorgeschoben und die Zellen zweier bis dreier Lagen des Wirtsgewebes unterhalb der Epidermis sehr dicht umwachsen haben (Textfigur 9). Die Hyphenstränge im Blattinnern bestehen aus Zellen mit einem Kern und wenig Protoplasma. Zur Zeit der Anlage eines Aecidiums sind die Hyphenzellen einigermaßen isodiametrisch und führen außer dem Kern ziemlich viel Protoplasma. Sie fangen bald darauf an, sich nach allen Richtungen des Raumes hin auszudehnen, besonders diejenigen, die die ersten beiden Zellagen unter der Epidermis umhüllen. Der Ausdehnungsprozeß beginnt in der Mitte des jungen Aecidiums und schreitet zum Rande fort, ohne daß die Randzellen selbst den Prozeß mitmachen. Es entsteht ein lockeres Ge-

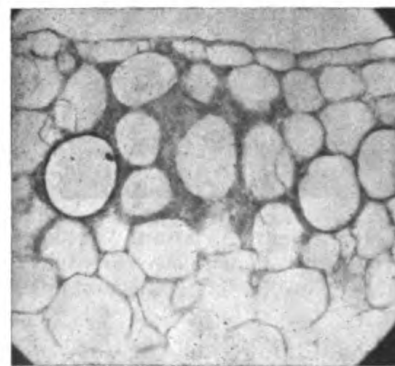


Fig. 9. Anfang eines Aecidiums, Hyphen umhüllen mehrere Wirtszellen.

webe, dessen Zellwände mit fortschreitender Entwicklung ein wenig an Dicke zunehmen. Durch sein Wachstum drückt es die Wirtszellen ganz zusammen oder drängt sie an den Rand des jungen Aecidiums (Textfig. 10). Hat das lockere Gewebe seine definitive Ausdehnung erreicht, dann gehen in vielen Zellen die Kerne und das Protoplasma zugrunde. Das lockere Gewebe hat, wie es scheint, die Funktion, den Platz zu bereiten für die entstehenden Sporen.

Während das lockere Gewebe im oberen Teil des jungen Aecidiums seine Ausdehnung vollendet, werden die Zellen an seinem Grunde größer als die gewöhnlichen Mycelzellen, ohne jedoch die Größe der Elemente des

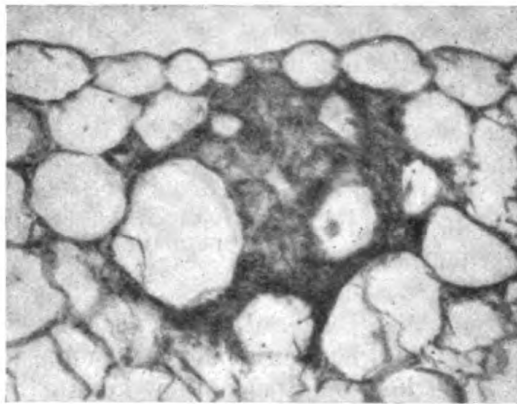


Fig. 10. Anlage des lockeren Gewebes.

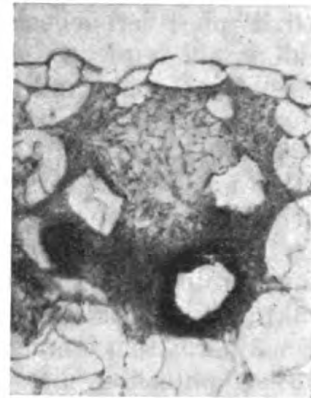


Fig. 11. Anlage des Paarungsgewebes.

lockeren Gewebes zu erreichen (Textfig. 11). Sie füllen sich mit dichtem, stark färbbarem Plasma und bekommen einen sehr großen Kern. Leider ist es mir nicht möglich gewesen, ihr Wachstum und ihren Zusammenhang mit den Mycelzellen genauer zu verfolgen, da eine sehr innige Verflechtung der einzelnen Hyphenäste stattfindet. Auf einem Schnitt erscheinen lückenlos aneinanderliegende Zellen von isodiametrischer Gestalt.

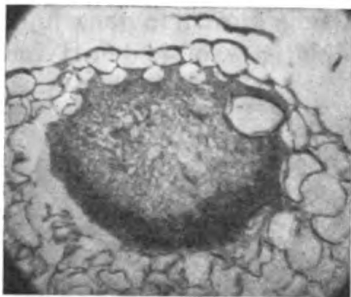


Fig. 12. Junges Aecidium vor der Befruchtung, Paarungsgewebe und lockeres Gewebe fertig ausgebildet.

Der Verlauf einer einzelnen Hyphe ist nur sehr selten und dann auch nur einige Zellen weit zu verfolgen. Das ganze Gewebe hat den Charakter eines Pseudoparenchyms oder Plectenchyms (Textfig. 12). Es ist 4—8 Zellagen dick und zählt in der Richtung parallel der Epidermis auf medianen Längsschnitten 50—70 Zellen. Die Größe der einzelnen Zellen wechselt stark. Sie gehen ohne scharfen Übergang nach oben in die Zellen des lockeren Gewebes, nach unten in die des normalen

Myceis über. Das für die Sporenbildung vorbereitete junge Aecidium hat nun ungefähr die Gestalt eines Rotationsellipsoides angenommen (Textfig. 12.), dessen längere Achsen parallel der Blattoberfläche verlaufen und dessen kurze Achse (Rotationsachse) zur Blattoberfläche senkrecht steht. Vom jungen Aecidium führen an einzelnen Stellen zum Blattnern lockere, in den Interzellularen verlaufende Hyphenstränge. Sie zeigen den Weg, den die das Aecidium bildenden Hyphen genommen haben. Rings um das

junge *Aecidium* sind die Zellen des Wirtes mehrere Schichten weit verändert. Durch den vom wachsenden *Aecidium* ausgeübten Druck erfolgte eine Verbiegung der Wände, die mit einer Verkleinerung der Zellumina verbunden war.

2) Die Befruchtung.

In dem pseudoparenchymatischen, plasmareichen Gewebe finden die Paarungen der Zellkerne statt. Das Gewebe soll deshalb „Paarungsgewebe“ genannt werden. Für das darüber liegende Gewebe mag die Bezeichnung „lockeres Gewebe“ beibehalten werden.

Die Paarung der Zellkerne geht in der Weise vor sich, daß die Längswand zwischen zwei benachbarten Zellen des Paarungsgewebes aufgelöst wird (Tafelfig. 1 u. 2). Es entsteht zuerst ein kleines Loch in den beiden zwei Paarungszellen von einander trennenden Wänden, das allmählich größer wird, bis oft keine Spur mehr von den ursprünglich trennenden Wänden zu finden ist. Diese Doppelzelle wird von *Christman* (1905) „Basalzelle“, von *Olive* „Fusionszelle“ genannt. Über die Abstammung der in Paarung befindlichen Zellen ist bisher nichts bekannt geworden. Auch mir war es unmöglich, darüber irgend etwas festzustellen. Wie schon erwähnt wurde, laufen die Hyphen, aus denen das Paarungsgewebe entsteht, derartig durcheinander, daß mir bei *Endophyllum* jeder Versuch, diesen Knäuel zu entwirren, mißglückte. Meine Arbeit enthält also in diesem Punkte eine Lücke, die auszufüllen um so wichtiger wäre, als wir über das Zustandekommen der *Aecidien*becher noch sehr wenig wissen. Wenn man das *Aecidium* mit einem *Discomyceten*fruchtkörper, etwa dem von *Pyronema* vergleicht, bei dem sämtliche ascogene Hyphen auf einige wenige, einer Ursprungshyphe aufsitzende Ascogone zurückführbar sind, so möchte man vermuten, daß es bei den *Aecidiosporen* bildenden Hyphen ähnlich sei. Es wäre dann erklärlich, weshalb die *Aecidien* in der Ansicht von oben meist so scharf umschrieben sind. Bisher deuten aber nur vereinzelte Befunde, z. B. die von *H. M. Richards* (1896) darauf hin. Vielleicht gelingt es, ein zur Untersuchung geeignetes Objekt zu finden. *Endophyllum* ist dafür denkbar ungünstig, viel ungünstiger noch, als die bisher von *Christman* (1905, 1906), *Kurssanow* (1910) und *Dittschlag* (1910) studierten Objekte.

In den bisher bekannten Fällen lag die zwei Paarungszellen ursprünglich trennende Wand stets in der Wachstumsrichtung der Sporenreihen, bei *Endophyllum* liegt sie oft senkrecht dazu (Fig. 1 und 3). Die durch Vereinigung der Paarungszellen neugebildete Fusionszelle ist etwa doppelt so groß als eine einkernige Zelle aus dem Paarungsgewebe. Die in der Fusionszelle liegenden Kerne stammen aus zwei ursprünglich selbständigen, von einander durch eine Wand getrennten Paarungszellen. Das erste Kernpaar besteht sicher nicht aus Geschwisterkernen im Sinne *Maire's* (1900). Seine Annahme, daß das erste Kernpaar durch Teilung eines einzigen Kernes derselben Zelle sich bilde, dürfte also kaum zutreffend sein!

3. Die erste Teilung der Fusionszelle und die Entstehung der Sporenreihen.

Bald nach ihrer Entstehung beginnt die Fusionszelle sich weiter zu entwickeln. Das Kernpaar teilt sich konjugiert, d. h. es findet gleichzeitige Teilung der beiden Kerne statt. Der Vorgang der konjugierten Kernteilung soll später genauer erörtert werden. Tafelfig. 3 zeigt den Anfang der Kern-

10*

teilung. Aus der ersten konjugierten Kernteilung gehen zwei Kernpaare hervor (Tafelfig. 4 und 5), die zunächst dicht beieinander liegen bleiben (Tafelfig. 4). Der Prozeß der Entstehung von Fusionszellen beginnt in der Mitte des jungen Aecidiums und schreitet zum Rande hin vorwärts. Je mehr Fusionszellen entstehen, um so mehr verliert das aus einkernigen Zellen bestehende Paarungsgewebe an Mächtigkeit und dieser Eindruck wird noch verstärkt, wenn die Fusionszellen im Laufe ihrer Entwicklung an Größe zugenommen haben.

Die vierkernige Basalzelle wächst etwas heran, die Kernpaare rücken auseinander (Tafelfig. 5), und zwischen ihnen entsteht (Tafelfig. 5) bald die erste Wand, durch die von der Fusionszelle die erste Sporenmutterzelle abgeschnitten wird (Tafelfig. 13). Nach der Bildung dieser treten die Zellkerne der Basalzelle wieder in konjugierte Teilung ein (Tafelfig. 13), und durch eine neue Wand zwischen den beiden Tochterkernpaaren entsteht die zweite Sporenmutterzelle. Dieser Vorgang wiederholt sich in der Basalzelle noch mehrmals. Die von der Fusionszelle abgegliederte Sporenmutterzelle wächst heran und teilt sich noch einmal in eine nach auswärts gelegene größere und eine nach innen gelegene kleinere Zelle. Die größere Zelle ist die junge Spore, die kleinere die Zwischenzelle. Die Figuren 14—15, 17—19 sind Kernteilungsfiguren aus Sporenmutterzellen. Es entsteht schließlich eine Reihe, unten beginnend mit der Fusionszelle, an die sich eine bis mehrere Sporenmutterzellen, weiter auswärts abwechselnd je eine Zwischenzelle und Spore anschließen (Tafelfig. 6 und 8). Solange die jungen Sporen im Reihenverbande bleiben, nehmen sie bedeutend an Größe zu. Die Zwischenzellen bleiben klein, werden bald von den sich ausdehnenden Sporen zerdrückt, so daß sie nur noch als winzige Anhängsel derselben erscheinen, bis sie schließlich ganz verschwinden. Solange eine Spore im Wachstum begriffen ist, bleibt ihre Wand unverändert dünn. Erst wenn mit dem Verschwinden der Zwischenzellen die Reihen an ihren äußeren Enden zu zerfallen beginnen, fängt die Membran an, sich zu differenzieren. Man erkennt bald zwei dickere Schichten, außen das Exospor, innen das aus mehreren Lamellen bestehende Endospor. Auf dem Exospor legt sich ein Netz aus kleinen Leisten an (Tafelfig. 23), die bei der Einstellung des Mikroskopes auf den Rand der Spore als haarfeine Stäbchen erscheinen. Das Endospor wird dunkler und läßt im ausgebildeten Zustande mehrere dünne Schichten erkennen. Während dieses Prozesses ist das Kernpaar der Spore zu einem einzigen großen Kern verschmolzen. Die Einzelheiten über das Verhalten der Kerne sollen später eingehender dargestellt werden.

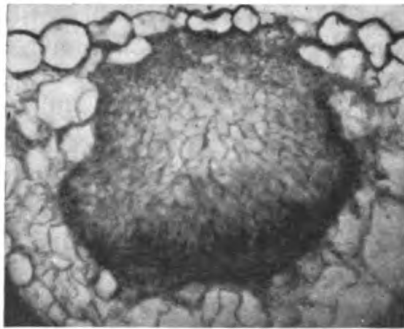


Fig. 13. Aecidium bald nach der Befruchtung, Anfang der Reihenbildung.

Da die ersten Fusionszellen in der Mitte des Aecidiums entstehen, entwickeln sich auch dort die ersten Sporenmutterzellen und jungen Sporen. Die Entwicklung schreitet mit ziemlich gleicher Schnelligkeit nach allen Richtungen zum Rande fort. Dadurch entsteht ein Sporenkegel, dessen abgerundete Spitze in der Mitte des Aecidiums liegt (Textfig. 13). Die kegelförmige Sporenmasse drängt durch ihr Wachstum das lockere Gewebe zunächst im ganzen vor sich her. Die Zellen des lockeren Gewebes werden

dabei zusammengedrängt, was nur mäßig in der Textfigur 13 zu erkennen ist. Bald zerreißt es und seine Reste werden gegen die das Aecidium überdeckende Epidermis zusammengeschoben.

4. Die Pseudoperidie.

Aus den peripherischen Reihen des Aecidiums entsteht die Pseudoperidie (Textfig. 14, Rand), die aber bei *Endophyllum* nicht so gut ausgebildet ist wie bei vielen anderen Aecidien. Die Basalzelle einer peripherischen Reihe gliedert wie die anderen zahlreiche Sporenmutterzellen ab. Diese teilen sich in der Regel nicht weiter, sondern umgeben sich mit einer starken gestreiften Membran, die die der Aecidiosporen an Dicke übertrifft. Die Zellen der Pseudoperidie werden so groß wie die Sporen. Das Protoplasma wird fast verbraucht, die Kerne bleiben klein und schrumpfen etwas, sind aber noch in den ältesten Zellen der Pseudoperidie nachweisbar. Ziemlich häufig entstehen in den jungen Zellen der Pseudoperidie durch konjugierte Kernteilung zwei Kernpaare, ohne daß es zu einer Wandbildung zwischen ihnen kommt. Seltener wird zwischen den Kernpaaren einer Pseudoperidienzelle eine Wand gebildet. In diesem Falle entstehen also die Homologa von Spore und Zwischenzelle. Doch behalten die Zellen dann den Charakter von Pseudoperidienzellen bei. Dementsprechend wird auch die Membran der Zwischenzelle verdickt und die Zwischenzelle geht nicht zugrunde. Ob diejenigen Zellen der Pseudoperidie, die in einer der Epidermis der Wirtspflanze parallelen Schicht liegen, die Endzellen der mittleren Sporenreihen darstellen, wie besonders klar aus den Bildern von Dittschlag (1910) hervorgeht, hat sich nicht feststellen lassen, da wesentliche Unterschiede zwischen den Endzellen und den anstoßenden älteren Sporen einer Reihe nicht zu beobachten waren.

Unter dem Druck der wachsenden Sporenmasse werden die über einem Aecidium liegenden Epidermiszellen der Wirtspflanze zuerst emporgehoben, dann entsteht ungefähr in der Mitte ein kleines Loch, das durch die nachdrängenden Sporen vergrößert wird. Die charakteristische Becherform der Aecidien tritt bei *Endophyllum* wohl wegen der großen Ausdehnung der Sporenlager nicht besonders hervor (Textfig. 14). Nach Öffnung der Aecidien beginnt eine sehr intensive Sporenbildung (Textfig. 14), die bei einem Aecidium drei bis vier Tage dauern kann. Werden die Sporen nicht weggeweht, dann entsteht auf dem Aecidium ein zylinderförmiges Sporenhäufchen, das innerhalb 24 Stunden um etwa $\frac{1}{2}$ mm an Höhe zunehmen kann.

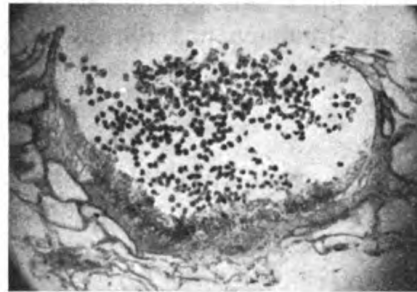


Fig. 14. Reifes und geöffnetes Aecidium mit reifen, z. T. schon gekeimten Sporen.

5. Verzweigung der Sporenreihen.

Bis vor kurzem war nur von Uredo- und Teleutosporen (Blackman 1906 und Christman 1907) bekannt, daß aus ihren Basalzellen durch Verzweigung mehrere Sporenreihen hervorgehen können. Daß Verzweigungen ähnlicher Art auch bei Aecidiosporenreihen auftreten, zeigte Dittschlag (1910) bei *Puccinia Falcaria* und ich konnte die Erscheinung auch an *Endophyllum* nachweisen. Jede Verzweigung beginnt mit

einer konjugierten Kernteilung in einer Basalzelle, aus der ein größeres und ein kleineres Kernpaar hervorgehen. Fast gleichzeitig entsteht an einer Seite der Basalzelle eine kleine Ausstülpung. In diese wandert das kleinere Kernpaar hinein (Tafelfig. 6), während das größere in der Mutterzelle zurückbleibt. Die Ausstülpung wird größer (Tafelfig. 7) und entwickelt sich zu einer sekundären Basalzelle, die genau wie eine aus den Paarungszellen unmittelbar entstandene Basalzelle Sporenmutterzellen und aus diesen durch Zweiteilung je eine Zwischenzelle und Spore bildet. In dem durch Tafelfig. 8 dargestellten Fall scheint die Verzweigung der Basalzelle schon in früher Jugend stattgefunden zu haben. Der tief liegende Ansatz der seitlichen Sporenkette deutet darauf hin.

6. Dreikernige Fusionszellen und Sporen.

Außer den regulären Fusionszellen mit zwei Kernen treten in jedem *Aecidium* Fusionszellen mit drei Kernen auf. Diese teilen sich konjugiert und es entstehen Sporen mit drei Kernen. Diese Tatsache war schon *Blackman* (1904) bekannt. Er ist geneigt, sich die Erscheinung so zu erklären, daß entweder eine Zuwanderung eines dritten Kernes in eine reguläre zweikernige Fusionszelle oder Teilung eines ihrer Kerne stattfände. Bei *Endophyllum Sempervivi* konnte ich feststellen, daß die erste der beiden Möglichkeiten zutrifft. Eine Wand zwischen einer zweikernigen Zelle, die mit allen Merkmalen einer Fusionszelle ausgestattet ist, und einer einkernigen Zelle löst sich und der Kern der letzteren schlüpft in die Fusionszelle ein (Tafelfig. 9). Die so entstandene dreikernige Basalzelle bildet dreikernige Sporenmutterzellen (Tafelfig. 10) und aus ihnen gehen Sporen mit drei Kernen hervor (Tafelfig. 11 und 12). Manchmal ist von den drei Sporenkernen einer beträchtlich kleiner als die anderen (Tafelfig. 12). Vielleicht läßt die Beobachtung darauf schließen, daß einer der Kerne degeneriert. Die Weiterentwicklung der dreikernigen Sporen zu verfolgen, gelang mir nicht.

7. Konjugierte Kernteilung.

Blackman (1904) hat schon bewiesen, daß die Teilungsweise der gepaarten Kerne im Grunde dieselbe ist, wie die der Einzelkerne; nur befinden sich bei der konjugierten Teilung die bei einander liegenden Kerne in gleicher Phase. Bei *Endophyllum Sempervivi* tritt konjugierte Teilung allein in den Fusionszellen und Sporenmutterzellen auf.

Die konjugierte Teilung wird durch das Verschwinden der Membran beider Kerne und durch Änderung der Anordnung der Chromatins eingeleitet (Tafelfig. 3). Die Nukleolen treten in das Cytoplasma ein und bleiben unweit der Teilungsfigur liegen (Tafelfig. 13). In den meisten Fällen bleiben sie während der ganzen Teilung erhalten (Tafelfig. 14—17) und sind bisweilen noch vorhanden, wenn die jungen Kerne schon wieder im Begriff sind, eine Membran zu bilden (Tafelfig. 15); manchmal sind sie jedoch schon zur Zeit der Anaphase zugrunde gegangen oder wenigstens nicht nachzuweisen. Die Kernteilung kann ich nur in allgemeinen Zügen schildern. Einzelheiten traten nicht deutlich genug zutage, da die Kernteilungsfiguren recht klein sind. Wenn die Kernmembranen eben verschwunden sind, liegt das Chromatin noch klumpig zusammen (Tafelfig. 13). Die Zahl der Chromosomen konnte ich auch bei starker Differenzierung nicht feststellen. Bei der Teilung rücken die Chromosomen mit ungleicher Geschwindigkeit vorwärts (Tafelfig. 14) und

legen sich schließlich zu vier mehr oder minder dichten Gruppen zusammen (Tafelfig. 15—18). Nach kurzer Zeit entstehen die neuen Kernmembranen und die beide Kernpaare trennende Wand (Tafelfig. 18 und 19).

8. Kernverschmelzung und Sporenkeimung.

Die ersten Veränderungen an den Kernpaaren treten kurz nach der Entstehung der Spore auf, während sie im Reihenverbände ihre spätere Größe erreicht. Mitten in den Kernen liegen dunkle, aus Chromatin und Nukleolus bestehende Klumpen zusammengeballt, ohne daß Einzelheiten erkennbar wären (Tafelfig. 8). Diese Massen wandern zu Beginn der Sporenentwicklung von der Mitte des Kernes zur Seite. Bald darauf lassen sich Chromatin und Nukleolus in den Kernen unterscheiden (Tafelfigur 20). In diesem Stadium pflegt die Spore sich aus dem Verbände ihrer Reihe zu lösen und ihre Wand beginnt die charakteristische Struktur anzunehmen. Das Chromatin, das vorher (Tafelfig. 20) in einer ziemlich homogenen Masse nur einige dunkle Körperchen erkennen ließ, zeigt jetzt mehr die Struktur eines noch nicht ausgebreiteten Netzes mit vielen Knoten. Die Beobachtung feinerer Kerneinzelheiten wird bei *Endophyllum* durch die dicke und zu dunkel gefärbte Sporenmembran beeinträchtigt. Nachdem das Chromatin deutliche Netzstruktur angenommen hat, legen sich die beiden Sporenkerne aneinander (Tafelfigur 21). Eine Gesetzmäßigkeit in ihrer gegenseitigen Lage, etwa der Art, daß einerseits die Nukleolen, andererseits die Chromatinmassen neben einander zu liegen kommen, ist nicht zu bemerken. Bald darauf verschwindet die trennende Wand zwischen den Kernen (Tafelfig. 21), so daß ein Raum für den Inhalt beider Kerne geschaffen wird. Aus dem Kernpaar ist damit ein großer Kern geworden (Tafelfig. 22), in dem die beiden Nukleolen zunächst noch einzeln erkennbar bleiben, während das Chromatin der beiden ursprünglichen Kerne sich wie ein Netz durch die ganze Kernhöhle ausspannt. Bald darauf vereinigen sich auch die Nukleolen zu einem einzigen, der Kern wächst noch etwas und tritt darauf in ein kurzes Ruhestadium (Tafelfig. 23). Zu dieser Zeit hat die Spore ihre definitive Größe erreicht. Auf dem Exospor sind die Leisten fertig ausgebildet, das Endospor erscheint ziemlich dick und ist in manchen Fällen deutlich geschichtet (Tafelfig. 24/25). Im Kern liegt ein großer Nukleolus. Das Chromatin hat seine Netzstruktur wieder verloren und statt seiner sind ziemlich viele Chromatinkörnchen, teils gröbere, teils feinere, namentlich an der Kernwand sichtbar (Tafelfig. 23 und 24). Durch die Kernhöhle ziehen sich vereinzelt einige farblose Lininstränge, die Reste des ursprünglichen Netzes, hin und wieder noch mit etwas Chromatin beladen.

Nach dem kurzen Ruhestadium nimmt das Chromatin langsam wieder Netzstruktur an. In den Figuren 24, 25, 26 sind die aufeinander folgenden Stadien wiedergegeben. Dem Zustand der Netzstruktur des Chromatins folgt ein Zustand, der mit der Synapsis der höheren Pflanzen große Ähnlichkeit zeigt und deshalb ebenfalls als Synapsis angesehen werden soll. Das Chromatinnetz zieht sich nämlich ganz allmählich zu einem dichten Haufen zusammen und legt sich ebenso wie der Nukleolus an einer anscheinend beliebigen Stelle der Kernwand an. Die Übergänge aus dem Zustand der Netzstruktur bis zur eben beschriebenen neuen Anordnung sind aus den Figuren 28—30 zu erkennen. Die in Fig. 31 dargestellte Lage ist der Höhepunkt der Synapsis. Bald lockert sich der dichte Chromatinknäuel und dunkle Stäbchen fangen an, in den freien Raum der Kernhöhle zurückzutreten (Fig. 32). Kurze

Zeit später erkennt man, daß sich aus der gesamten Chromatinmasse verhältnismäßig wenige Chromatinkörperchen herausdifferenzieren. In der Fig. 33 kann man acht Stück zählen. Man hat vielleicht Doppelstäbchen vor sich. Mit Sicherheit ist aber die wahre Gestalt der Körperchen nicht festzustellen, weil die Objekte zu klein sind. Will man diesem Stadium einen besonderen Namen geben, so wird man es als Diakinese bezeichnen müssen.

Der Kern tritt nun bald in Teilung ein. Es wird eine im Vergleich zur Größe des Kernes auffallend kleine Spindel gebildet (Fig. 34), von derselben Gestalt wie die Teilungsfigur eines Einzelkernes aus einem Kernpaar (Fig. 14). Die Tochterkerne ähneln den aus einer konjugierten Teilung hervorgegangenen jungen Kernen, die in Figur 15 dargestellt sind. Wie Fig. 36 zeigt, liegen die jungen Kerne zunächst dicht beieinander, rücken bald darauf voneinander weg (Fig. 37) und teilen sich nochmals. Die zweite Teilung findet noch in der Spore (Fig. 39) oder erst im Promycel statt (Fig. 38); äußerlich zeigt sie nichts besonderes. Die Beobachtungen haben schließlich ergeben, daß aus dem Verschmelzungskern in der Spore durch zwei kurz aufeinander folgende Teilungen vier Kerne hervorgehen.

Über die Entwicklung des Promycels ist viel Neues nicht zu berichten. Eine mehr oder minder große Blase (Fig. 27) stülpt sich, indem sie das Exospor durchbricht (Fig. 24) vor und streckt sich zu einem zylindrischen Schlauch von bekannter Form. Der Kern (Fig. 27) oder, falls schon Teilungen in der Spore stattgefunden haben, die Kerne, bzw. die Spindeln (Fig. 35) wandern in den Keimschlauch ein, nachdem die Hauptmasse oder das gesamte Plasma die Spore verlassen hat. Die erste Wand im Promycel ist auch nach längerer Zeit noch daran wiederzuerkennen, daß sie dicker ist, als die später entstehenden Wände. Manchmal entsteht die erste sichtbare Wand in der Mitte des Promycels, wo sonst in der Regel die zweite Wand liegt. Ob in diesem Falle das Promycel gegen den Sporenhohlraum überhaupt nicht abgegrenzt wird oder ob die erste Wand vom Exospor verdeckt wird, bleibt unsicher. Das Promycel wird in der Mitte durch eine Wand halbiert und die entstandenen Tochterzellen werden wieder halbiert (Fig. 38 und 40). Sobald dies geschehen, fällt oft die leere Sporenhülle ab (Fig. 40, 42, 43). Jede Zelle des Promycels bildet dann eine Sporidie. Zunächst wächst aus jeder Zelle eine Vorstülpung heraus (Fig. 41), die an der Spitze zu einer anfangs kernlosen Blase, der Sporidie anschwillt. Aus der Promycelzelle wandert dann der Kern in das Sterigma (Fig. 42). Wenn er an die enge Stelle zwischen Sterigma und Sporidie kommt, streckt er sich in die Länge und wandert in diesem Zustande in die Sporidie hinein (Fig. 42). Das Loch an der Übergangsstelle vom Sterigma in die Sporidie schließt sich und die einkernige Sporidie fällt ab (Fig. 45₁). Die Keimung der Sporidie erfolgt sofort, indem sie einen Schlauch treibt, in den der Kern hineinwandert (Fig. 45₃ und 45₄).

Damit ist die häufigste Art und Weise der Keimung und Sporidienbildung geschildert. Nicht selten zeigen sich Abweichungen. Die Spore treibt bei der Keimung bisweilen an zwei einander gegenüberliegenden Stellen Ausstülpungen (Fig. 25). Mehr als zwei Keimschläuche sind jedoch nie beobachtet worden. Beide Ausstülpungen können zu einem Keimschlauch auswachsen; doch tritt die Hauptmenge des Plasmas und der Kern nur in den einen Keimschlauch. In Fig. 41 ist dieser Fall dargestellt. Die Spore hatte zwei Keimschläuche entsendet, die zu gleicher Länge heranwuchsen. Aber nur der eine Keimschlauch hat sich zu einem vierzelligen Promycel entwickelt. Im andern Keimschlauch, von dem in der Zeichnung (Fig. 41) nur ein Stückchen wieder-

gegeben ist, war nur ganz wenig Plasma vorhanden. Eine andere Erscheinung, die noch der Erwähnung bedarf, betrifft die Teilung der Kerne in den Promycelzellen. Der Kern von manchen Promycelzellen teilt sich in zwei, einer oder beide Tochterkerne teilen sich noch einmal, so daß drei (Fig. 43) oder vier Kerne in einer Promycelzelle vorhanden sein können. In das Sterigma tritt dann nur ein Kern hinein, während der oder die anderen Kerne zunächst in der Promycelzelle zurückbleiben (Fig. 44). Nach der Entstehung der ersten Sporidie wird an einer anderen Stelle auf einem anderen Sterigma eine zweite Sporidie gebildet. So erklärt sich die anfangs erwähnte Tatsache, daß Promycelien mit mehr als vier Sporidien entstehen können. Mitunter teilt sich der Kern erst in der Sporidie, so daß Sporidien mit zwei Kernen entstehen (Fig. 45₂), die nicht anders keimen als die Sporidien mit einem Kern (Figur 46).

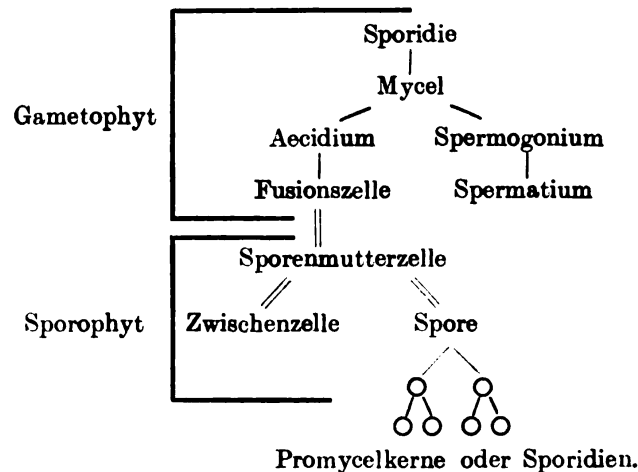
Auffällige Unregelmäßigkeiten in der Keimung der Sporen sind von mir nicht beobachtet worden. Nypels (1908) und Maire (1900) berichten von häufiger auftretenden Unregelmäßigkeiten, von denen besonders hervorzuheben sind, daß manche Sporen nicht wie Teleutosporen, sondern wie typische Aecidiosporen keimten. Sie trieben einen langen, einfachen oder verzweigten Faden. Querwände wurden nicht eingeschaltet, ebensowenig Sporidien gebildet. Diese Erscheinungen sollen unter normalen Keimungsbedingungen eingetreten sein. Nypels und Maires Beobachtungen haben sich an dem zu dieser Untersuchung benutzten Material nicht bestätigen lassen.

9. Reduktionsteilung und Generationswechsel.

Man vergegenwärtige sich noch einmal die bemerkenswertesten Ereignisse im Lauf der Entwicklung von *Endophyllum Sempervivi*: die Paarung zweier Zellen und die damit verbundene Entstehung der Fusionszelle, aus dieser durch konjugierte Kernteilung die Abschnürung der Sporen-mutterzellen und ihre Teilung in Spore und Zwischenzelle, die Kernverschmelzung in der Spore und die Teilung des Verschmelzungskernes durch zwei aufeinanderfolgende Schritte in die vier Promycelkerne. Es handelt sich nun um die Beantwortung der Frage nach den Beziehungen dieser Vorgänge untereinander und ihrer Bedeutung für die Entwicklung des Pilzes. Die Paarung der Zellkerne und die damit verbundene Entstehung der fertilen Zelle ist ebenso wie bei den von Blackman (1904) und Christman (1905) untersuchten Formen ein Befruchtungsprozeß. Die Befruchtung ist aber nicht mit sofortiger Verschmelzung der Geschlechtskerne verknüpft, was ja auch schon von anderen Uredineen hinlänglich bekannt ist. Die zusammengetretenen Kerne teilen sich noch mehrmals konjugiert, bevor sie in der reifen Spore miteinander verschmelzen. Der Verschmelzungskern führt doppelt so viel Chromosomen als jeder einzelne der konjugierten Kerne, aus denen er entstanden ist. Die Teilung des Verschmelzungskernes ist sicher als Reduktionsteilung aufzufassen. Dann wäre sein erster Teilungsschritt die heterotypische, sein zweiter die homöotypische Teilung. Genau hat sich das wegen der Kleinheit des Objektes nicht nachweisen lassen. Überhaupt ist die Zahl der Chromosomen bis jetzt an keiner Uredinee festgestellt worden. Blackman (1904) und Christman (1905) geben keine Zahlen an. Vor ihnen versuchten mehrere Forscher allein aus den bei der konjugierten Kernteilung gewonnenen Beobachtungen die Zahl der Chromosomen zu bestimmen. Poirault und Raciborski (1895) nahmen bei den von

ihnen untersuchten Rostpilzen nur ein Chromosom an, sicher mit Unrecht. S a p p i n T r o u f f y (1896) und R. M a i r e (1900) folgerten aus gewissen, meinen Figuren 15 und 16 ähnlichen Bildern, daß die Uredineen zwei Chromosomen hätten. Das behauptet M a i r e (1900) auch von den E n d o p h y l l u m arten. E n d o p h y l l u m S e m p e r v i v i hat aber sicher mehr als zwei Chromosomen, wahrscheinlich acht (Fig. 33). Eine weitere Erörterung über die Zahl der Chromosomen bei den Uredineen überhaupt und bei E n d o p h y l l u m S e m p e r v i v i ist jedoch müßig, solange nicht die Vorgänge bei der konjugierten und der Reduktionsteilung genauer bekannt sind.

Trotzdem bei E n d o p h y l l u m S e m p e r v i v i die Einzelheiten der Reduktionsteilung, insbesondere die Chromosomenreduktion nicht ausreichend bekannt sind, genügen die beobachteten Tatsachen, nämlich die Paarung zweier Zellen mit je einem Kern, die Verschmelzung des Kernpaares und die Teilung des Verschmelzungskernes in die vier Kerne des Promycels zum Nachweis, daß E n d o p h y l l u m S e m p e r v i v i ebenso wie andere genauer untersuchte Uredineen einen echten Generationswechsel besitzt. Im Gametophyten von E n d o p h y l l u m S e m p e r v i v i haben alle Zellen je einen Kern mit einfacher Chromosomenzahl. Im Sporophyten haben die Zellen zwei Kerne, die zunächst nebeneinander bestehen und später in der Spore verschmelzen. Die Anwesenheit der Kernpaare beweist also, daß in den Sporophytenzellen schon vor der Verschmelzung der Kerne die doppelte Chromosomenzahl, allerdings auf zwei Kerne verteilt, vorhanden ist. Zum Gametophyten gehören die Sporidie, das Mycel, die Aecidien, die Fusionszelle, das Spermogonium, das Spermatium, die Sporenmutterzelle, die Zwischenzelle, die Spore. Der Sporophyt besteht nur aus zweierlei Zellen, den Sporen und Zwischenzellen, die aus den Sporenmutterzellen entstehen. Das Entwicklungsschema wäre folgendes, wenn man den am häufigsten vorkommenden Fall betrachtet, daß die eben reduzierten Kerne unmittelbar die Kerne für die Sporidien abgeben:



Theoretische Erörterungen.

Vergleich des Entwicklungsganges von E n d o p h y l l u m S e m p e r v i v i mit dem von E n d o p h y l l u m E u p h o r b i a e s i l v a t i c a e.

Denselben Entwicklungsgang, den E n d o p h y l l u m S e m p e r v i v i besitzt, darf man auch für E. E u p h o r b i a e s i l v a t i c a e

voraussagen. Maires (1900) Angabe, daß das Kernpaar in den Sporen von *Endophyllum Sempervivi* nicht verschmelze, hat sich als falsch herausgestellt und man darf behaupten, daß auch Sappin-Trouffys (1896) Meinung, das Kernpaar in den Sporen von *Endophyllum Euphorbiae* verschmelze nicht, sich ebenfalls als falsch erweisen wird. Schon aus seinen Abbildungen ist deutlich zu erkennen, welchen Fehler Sappin-Trouffy gemacht hat. Er muß übersehen haben, daß die Kerne in der Spore verschmelzen und daß häufig schon in derselben die heterotypische Teilung erfolgt. Die beiden Kerne, die er auf ihrer Wanderung in den Keimschlauch gesehen und gezeichnet hat, zeigen das Gepräge der Kerne, die bei *Endophyllum Sempervivi* aus der heterotypischen Teilung des Verschmelzungskernes hervorgehen. Diese Kerne sind bei *Endophyllum Sempervivi* schon durch ihre geringere Größe von den ursprünglichen beiden Kernen in den Aecidiosporen, bevor sie zur Verschmelzung gekommen sind, deutlich zu unterscheiden. Sie zeigen ferner eine ganz verschiedene Struktur des Chromatins. Der Nukleolus ist in den Kernen vor der Verschmelzung groß und deutlich, aber in den aus der ersten Teilung des Verschmelzungskernes entstandenen Kernen zwischen den Chromatinkörnern nicht als Nukleolus zu identifizieren. Ebenso wie die aus der heterotypischen Teilung bei *Endophyllum Sempervivi* hervorgegangenen Kerne sehen die Kerne aus, die nach Sappin Trouffys (1896) Zeichnungen bei *Endophyllum Euphorbiae silvaticae* zur Zeit der Keimung die Spore verlassen. Die Ähnlichkeit dieser Kerne mit den entsprechenden von *Endophyllum Sempervivi* ist nicht zu verkennen. Sappin Trouffy (1896) wird also die aus der heterotypischen Teilung hervorgegangenen Kerne mit den ursprünglich in der Spore vorhandenen verwechselt haben.

Zusammenfassung.

Die Resultate der Untersuchungen an *Endophyllum Sempervivi* lassen sich kurz folgendermaßen zusammenfassen: Aus der Sporidie entwickelt sich das Mycel des Gametophyten mit einkernigen Zellen. An ihm entstehen die Spermogonien mit Spermarien und Aecidien. Die Funktion der Spermarien ist unbekannt. Im Grunde des Aecidiums erfolgt durch Auflösen der Längswände zwischen zwei einkernigen Zellen die Bildung der Fusionszellen, die durch die Paarung zwei Kerne erhalten. Hiermit beginnt der Sporophyt. Nach voraufgegangener konjugierter Kernteilung gliedert die Basalzelle die Sporenmutterzelle ab, die sich in die Zwischenzelle und Spore teilt. Jedes dieser Gebilde hat durch konjugierte Kernteilung ein Kernpaar erhalten, das von dem ersten Kernpaar in der Fusionszelle abstammt. In den Sporen verschmelzen die Kerne. Darauf erfolgt in der Spore oder im Promycel die Reduktionsteilung, deren Einzelheiten, wie z. B. die Zahl der Chromosomen, unklar geblieben sind. Das Promycel hat in der Regel vier Zellen mit je einem Kern. Dieses sind die reduzierten Kerne. Aus einer Promycel-

zelle entsteht meistens nur je eine Sporidie mit einem Kern. Es ist bei *Endophyllum Sempervivi* ein echter Generationswechsel vorhanden.

Figurenerklärung.

Die Zeichnungen wurden mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparates angefertigt. Die Figuren 1—33, 35, 39—40, 43—45 wurden nach Schnittpräparaten, Figuren 34, 36—38, 41 und 42 nach Freihandpräparaten angefertigt (siehe Untersuchungsmethoden No. 2. Fixierung). Die Präparate waren mit Saffranin, Gentianaviolett-Orange G oder mit Eisenhämatoxylin, Eosin-Nelkenöl gefärbt. Zeiß Comp. Ocular 4, 8, 12 in Verbindung mit der homogenen Immersion 2 mm, num. Ap. 1,3 resp. 1,4.

Fig. 1. Stück aus dem Paarungsgewebe, unten an die Haut einer Kristallsandzelle des Wirtes, oben an das lockere Gewebe angrenzend. Zellfusion durch Auflösen einer Längswand.

Fig. 2. Desgl. wie Fig. 1. Der eine Zellkern gerade in der Wandlücke steckend.

Fig. 3. Desgl. wie Fig. 1. Nach der Zellfusion durch Wandauflösung Beginn der Entwicklung durch konjugierte Kernteilung: Kernwand fast aufgelöst, Chromatin vom Nukleolus getrennt; frühe Prophase.

Fig. 4. Teilung des ersten Kernpaares in zwei Tochterpaare. Stadium kurz vor der Bildung der ersten Wand.

Fig. 5. Basalzelle durch Kopulation zweier Paarungszellen aus den beiden äußersten Reihen des Paarungsgewebes entstanden. Vier Kerne nach einer konjugierten Teilung. Beginn der Wandbildung zwischen den Kernpaaren.

Fig. 6. Reihe von der Basalzelle ausgehend mit vier Sporen und vier Zwischenzellen. An den älteren Sporen Beginn der Wandverdickung. In der Basalzelle oben links in der Ausstülpung ein kleines Kernpaar, die konjugierten Kerne für einen Seitenzweig.

Fig. 7. Der von der Basalzelle ausgehende Zweig ist deutlicher geworden. Die Ausstülpung hat an Länge zugenommen. Das in der Ausstülpung liegende Kernpaar hat noch nicht die normale Größe erreicht.

Fig. 8. Drei Sporenreihen, bestehend aus Basalzellen, Sporenmutterzellen, Sporen und Zwischenzellen. Die mittlere Reihe ist durch Verzweigung der am weitesten rechts stehenden Reihe entstanden.

Fig. 9. Paarungsgewebe. Entstehung einer dreikernigen Basalzelle durch Einwanderung eines dritten Kernes in eine zweikernige Fusionszelle.

Fig. 10. Dreikernige Basalzelle mit der ersten dreikernigen Sporenmutterzelle.

Fig. 11. Dreikernige Spore.

Fig. 12. Spore mit drei Kernen. Etwas vorgeschrittenes Stadium als in Fig. 11. Nur zwei Kerne haben sich weiter entwickelt, der dritte degeneriert.

Fig. 13. Konjugierte Kernteilung in einer Basalzelle nach der Abschnürung der ersten Sporenmutterzelle. Stadium: Prophase. Die Nukleolen haben sich vom Chromatin getrennt und sind in das umgebende Plasma getreten. Das Chromatin hat sich verdichtet.

Fig. 14. Sporenmutterzelle. Anaphase der konjugierten Kernteilung. Die alten Nukleolen noch vorhanden, zwei Spindeln.

Fig. 15. Sporenmutterzelle. Telophase der konjugierten Kernteilung. Die alten Nukleolen noch vorhanden.

Fig. 16. Basalzelle. Anaphase der konjugierten Kernteilung.

Fig. 17. Sporenmutterzelle. Die Spindelfasern sind verschwunden. Sonst wie Fig. 16.

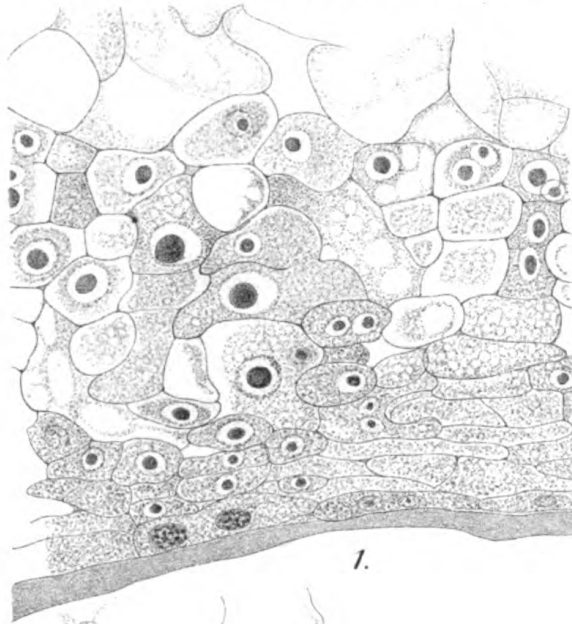
Fig. 18. Sporenmutterzelle. Teilung in Spore und Zwischenzelle bald vollzogen, die junge Wand fast vollendet. Reste von den Spindelfasern noch vorhanden. Die jungen Kerne in verschiedenen Stadien der Telophase. Die alten Nukleolen verschwunden.

Fig. 19. Teilung der Sporenmutterzelle in Spore und Zwischenzelle vollendet. In den Zellen je ein Kernpaar.

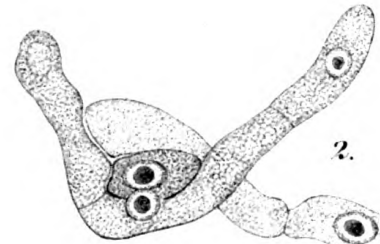
Fig. 20. Junge Sporen mit Zwischenzellen. Chromatin napfförmig, darin der Nukleolus. Sporenwand noch nicht verdickt.

Fig. 21. Junge freie Spore. Wandskulptur auf dem Exospor vollendet. Endospor noch dünn. Das Chromatin hat Netzstruktur angenommen. Die Kerne haben sich zur Verschmelzung aneinander gelagert, und die trennende Wand zwischen ihnen ist aufgelöst.

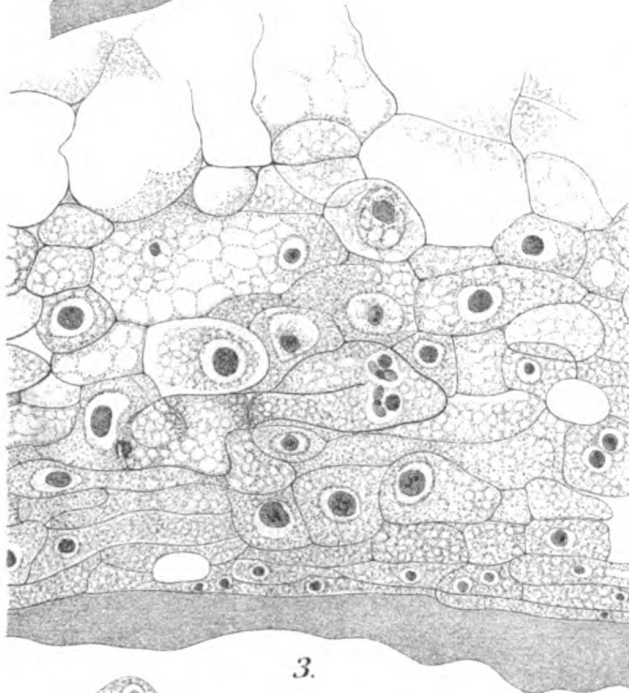
Fig. 22. Spore mit fertig ausgebildeter Wand. Im Verschmelzungskern schon ein einheitliches Chromatinnetz, aber die beiden Nukleolen noch selbständig.



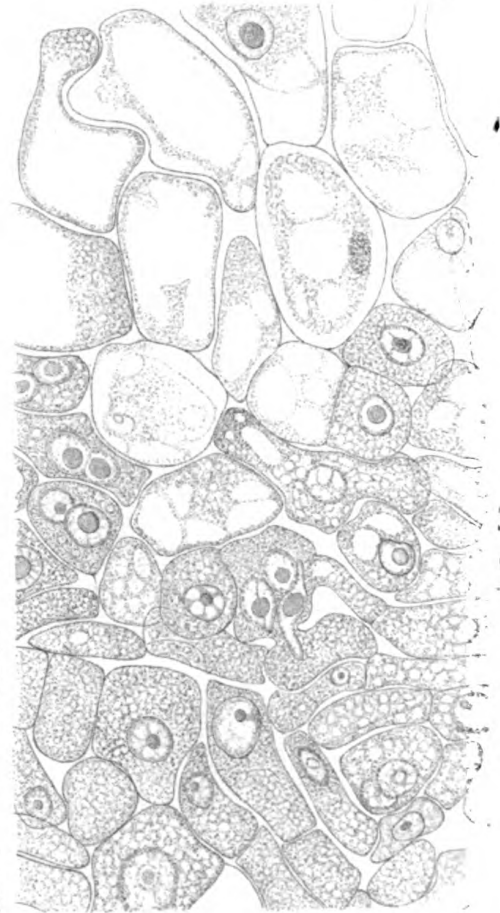
1.



2.



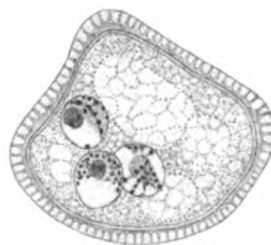
3.



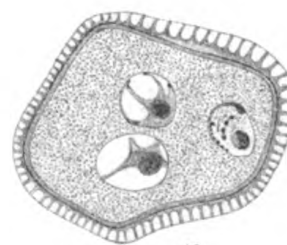
9.



10.



11.



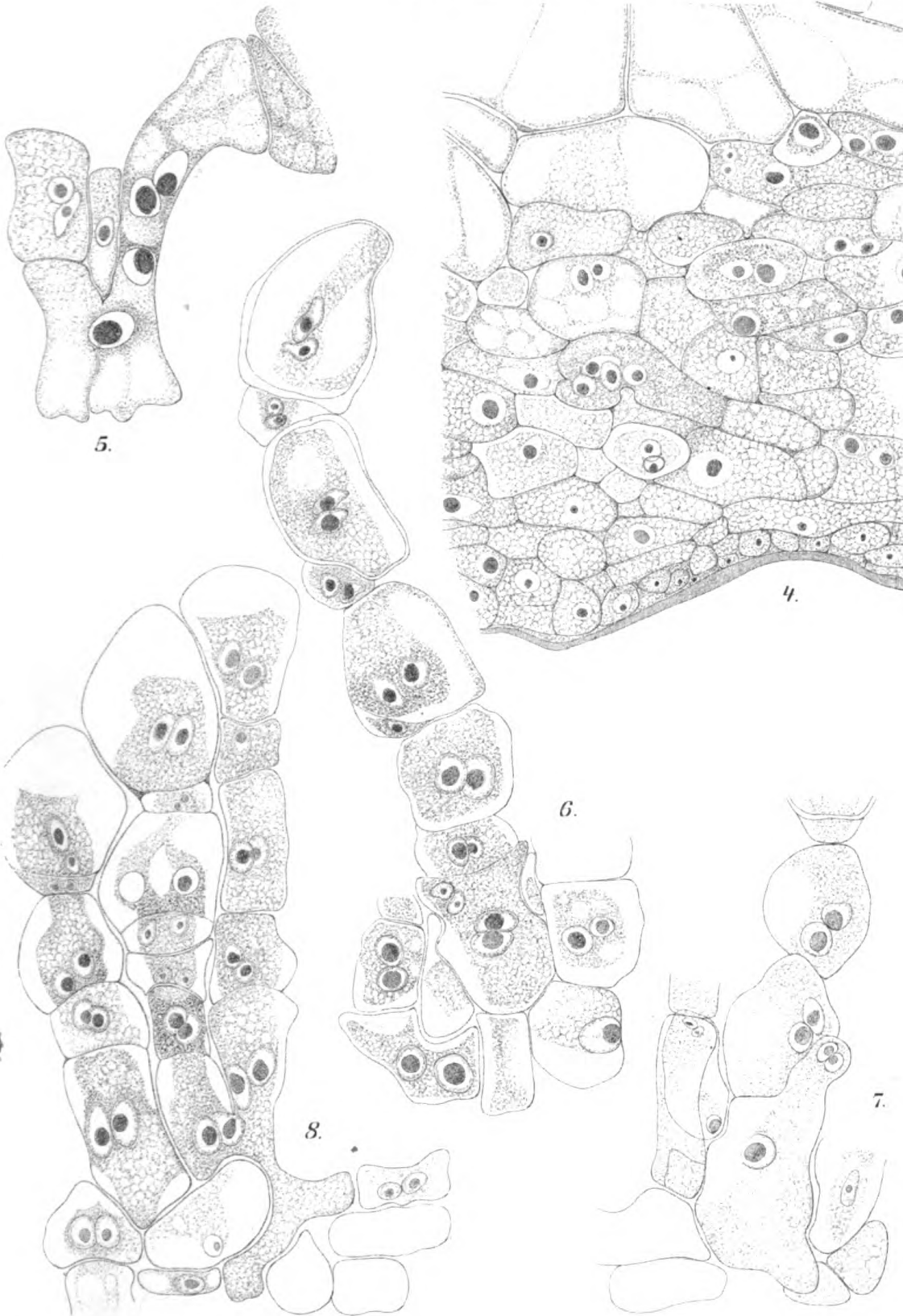
12.



13.

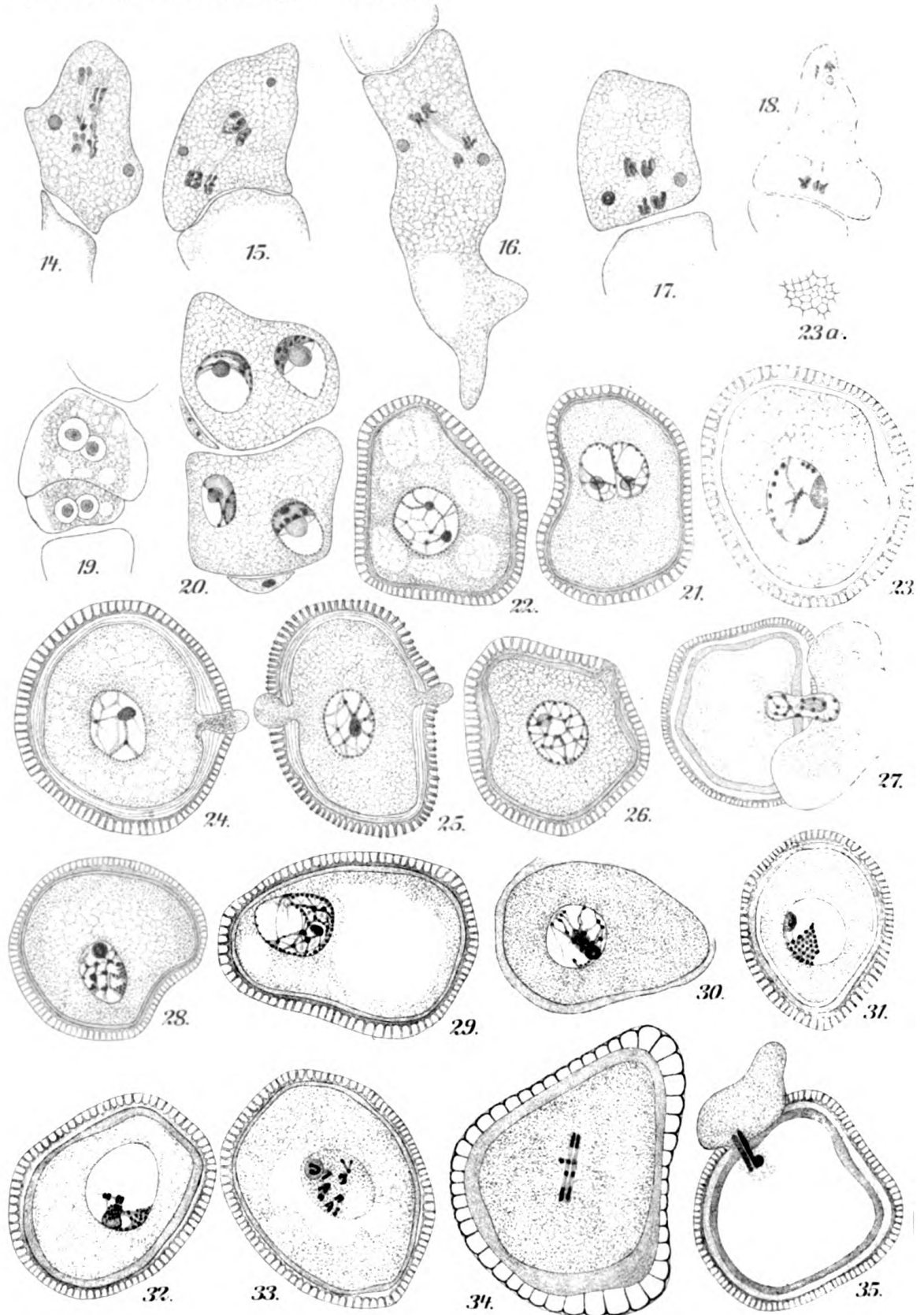
A.W.H. Hoffmann gez.

Verlag von Gustav Fischer



av Fischer in Jena.

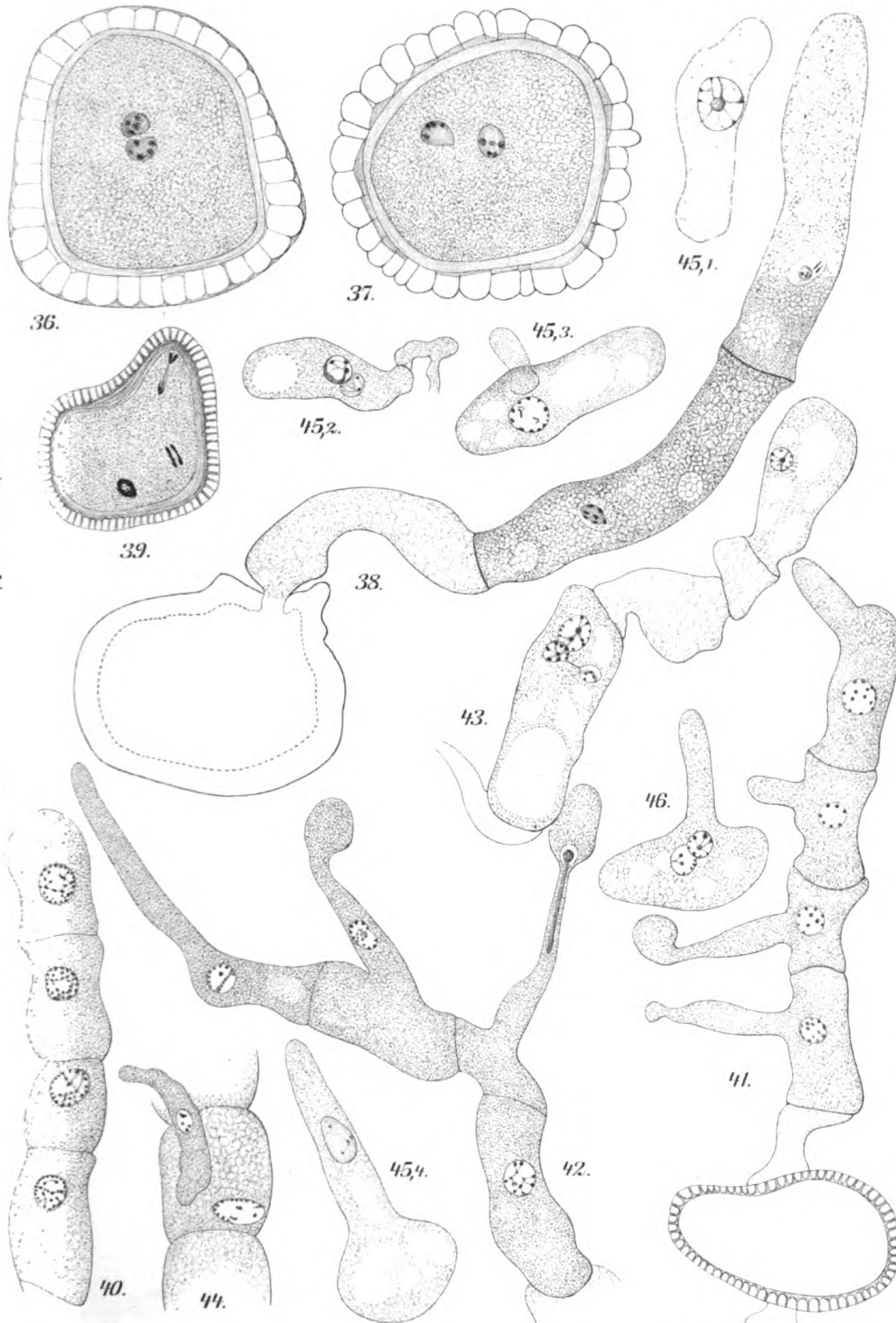
Endophyllum Sempervivi



A. W. F. Hoffmann del.

Verlag von Gustav

A.W.H. Hoffmann, Endophyllum Sempervivi Taf. II.



v Fischer in Jena.

Flane, Lüh Inst Berlin.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Fig. 23. Völlig reife Spore. Kern im Ruhestadium. Chromatin und Nukleolus der Kernwand angelagert.

Fig. 24. Keimung einer reifen Spore mit einem Keimporus. Endospor geschichtet. Der Kern beginnt das Ruhestadium zu verlassen. Das Chromatin beginnt wieder Netzstruktur anzunehmen.

Fig. 25. Keimung einer Spore mit zwei Keimporen. Im Kern hat das Chromatin nach dem Ruhestadium Netzstruktur angenommen.

Fig. 26. Spore mit dem ersten Anzeichen einer Keimung; das Exospor noch nicht durchbrochen. Im Kern hat das Chromatin den Höhepunkt des Netzstrukturstadiums erreicht.

Fig. 27. Keimende Spore. Der Kern tritt im Netzstadium in die Keimblase ein.

Fig. 28. Spore vor der Keimung. Im Kern fängt das Chromatin an sich zusammenzuziehen.

Fig. 29. Noch nicht gekeimte Spore. Chromatin in der einen Kernhälfte zusammengezogen.

Fig. 30. Angeschnittene Spore. Synapsis beinahe vollendet.

Fig. 31. Höhepunkt der Synapsis.

Fig. 32. Aus dem synaptischen Chromatinknäuel treten Stäbchen in die Kernhöhle zurück.

Fig. 33. Kernwand nicht sehr deutlich. 8 (?) winkelförmige Stäbchen (Doppelstäbchen?).

Fig. 34. Heterotypische Spindel in der noch nicht gekeimten Spore.

Fig. 35. Der Kern verläßt im Zustand der heterotypischen Spindel (mit Nukleolus) die Spore und wandert in die Keimblase.

Fig. 36. Die aus der heterotypischen Teilung hervorgegangenen Kerne nahe beieinander.

Fig. 37. Die aus der heterotypischen Teilung hervorgegangenen Kerne etwas voneinander weggerückt.

Fig. 38. Spore mit zweizelligem Promycel. In der einen Zelle Kern in der homöotypischen Teilung begriffen, in der anderen Zelle homöotypische Teilung fast vollendet.

Fig. 39. Die beiden Spindeln der homöotypischen Teilung in einer noch nicht gekeimten Spore.

Fig. 40. Vierzelliges Promycel mit den vier Kernen. Sporenhülle abgefallen.

Fig. 41. Vierzelliges Promycel, Kerne mit reduzierter Chromosomenzahl. Promycel noch an der Sporenhülle sitzend, diese mit einem Teil eines zweiten leer gebliebenen Keimschlauches. Anfang der Sterigmen- und Sporidienbildung.

Fig. 42. Vierzelliges Promycel, Sporenhülle abgefallen, Sporidienbildung.

Fig. 43. Promycel. In seiner untersten Zelle hat sich der Kern geteilt, der eine Tochterkern noch einmal.

Fig. 44. Der Kern einer Promycelzelle hat sich geteilt. Ein Tochterkern wandert in ein Sterigma.

Fig. 45. 1) Einkernige Sporidie. 2) Sporidie zweikernig nach Teilung des Kernes. 3) Keimung einer einkernigen Sporidie. 4) Kern im Keimschlauch der Sporidie.

Fig. 46. Keimung einer zweikernigen Sporidie.

Literaturverzeichnis.

- Bary, A. de, Untersuchungen über die Entwicklung einiger Schmarotzerpilze. (Flora. Bd. 46. 1863. p. 177.)
 —, Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. (Ann. sc. nat. Sér. 4. T. 20. 1863. p. 68—99.)
 —, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozen und Bakterien. 1884. § 79—83.
 Blackman, V. H., On the fertilization, alternation of generations and general cytology of the Uredineae. (Annals of Botany. Vol. 18. 1904. p. 323—373.)
 — and Fraser, Helen C., Further studies on the sexuality of the Uredineae. (Annals of Botany. Vol. 20. 1906. p. 35—48.)
 Bubák, Infektionsversuche mit einigen Uredineen. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 9. 1902. p. 113—128.)
 Christman, A. H., Sexual reproduction in the rusts. (Botan. Gaz. Vol. 39. 1905. p. 267—274.)
 —, The nature and development of the primary Uredospores. (Trans. Wisc. Acad. Sc. Vol. 15. 1907. p. 517—526.)
 —, The alternation of generations and the morphology of the sporeforms in the rusts. (Bot. Gaz. Vol. 44. 1907. p. 81—101.)

- Clauben, P.**, Zur Kenntnis der Kernverhältnisse von *Pyronema confluens*. (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. 25. 1907. p. 586.)
- Dangeard, P. A. et Sappin-Trouffy, P.**, Une pseudofécondation chez les Urédinées (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris. T. 116. 1893. p. 267—269.)
- Dittschlag, E.**, Zur Kenntnis der Kernverhältnisse von *Puccinia Falariae*. (Zentralbl. f. Bakteriologie. Abt. II., Bd. 28. 1910. p. 473—492.)
- Engler, A. u. Prantl, K.**, Pflanzenfamilien. I. T. Abt. 1**, Uredineae (Dietel). 1900.
- Hariot, P.**, Les Uridinées. (Encyclopédie scient. Bibliothèque de botan. cryptogam.) Paris. 1908. p. 284—286.
- Harper, R.**, Sexual reproduction in *Pyronema confluens* etc. (Ann. Bot. Vol. 14. 1900. p. 321).
- , Sexual reproduction and the organization of the nucleus in certain mildews. (Carnegie Instit. of Washington. 1905).
- Kurssanow, L.**, Zur Sexualität der Rostpilze. (Zeitschr. f. Bot. Bd. 2. 1910. p. 81—93).
- Maire, R.**, L' évolution nucléaire chez les Endophyllum. (Journ. de Bot. T. 14. 1900. p. 80—97).
- Nypels, P.**, La germination de quelque écidiospores. (Ann. Soc. Belge de Microsc. T. 22. 1898).
- Olive, E. W.**, Sexual cell fusions and vegetative nuclear divisions in the rusts. (Ann. of Botany. Vol. 22. 1908. p. 331—360).
- Poirault, G. et Raciborski, M.**, Sur les noyaux des Urédinées. (Journ. de Bot. T. 9. 1895. p. 318).
- Richards, H. M.**, On some points in the development of the aecidia. (Proc. Amer. Acad. Vol. 31. 1896. p. 255—270).
- Sappin-Trouffy, P.**, Recherches histologiques sur la famille des Urédinées. (Le Botaniste. T. 5. 1896. p. 59—244).
- Tulasne, L. R.**, Second mémoire sur les Urédinées et les Ustilaginées. (Ann. Sci. Nat. IV. Sér. T. 2. 1854. p. 77).

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher usw.

- Lange, Erwin**, Krankheiten der Kulturpflanzen. 1. Serie. Die Getreidekrankheiten. 2. Aufl. 3 Taf. je 101,5×80 cm. Mit Text. 11 p. mit 3 Taf. 8°. 6 M.
- Lüstner, G.**, Bericht über die Tätigkeit der pflanzenpathologischen Versuchsstation. (Ber. d. Kgl. Lehranstalt f. Wein- usw. Bau zu Geisenheim. Für 1910. Berlin (P. Parey) 1911. p. 147—180).

Untersuchungsmethoden, Instrumente usw.

- Barnard, J. E., and Hewlett, R. T.**, On a method of disintegrating bacterial and other organic cells. (Proc. R. Soc. Ser. B. Vol. 84. 1911. N. B. 568. Biol. Sc. p. 57—66. 1 Taf.)
- Hesse, Erich**, Das Berkefeld filter zum Nachweis von Bakterien im Wasser. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 69. 1911. H. 3. p. 522—552.)

Systematik, Morphologie.

- Bönnicke, L.**, Sur les Mycorhizes endotrophes des Orchidées, Pirolacées et Ophioglossacées. 3 Taf. (Trav. de la Soc. des Natural. à l'Univ. de Kharkow. T. 43. Ersch. 1910.)
- Ellis, David**, On the new Genus of iron-bacteria, *Spirophyllum ferrugineum* [Ellis]. (Proc. R. Soc. Edinburgh. Vol. 31. 1911. Part 4. p. 499—504. 2 Taf.)
- Fuchs, Gilbert**, Morphologische Studien über Borkenkäfer. 1. Die Gattungen Ips de Geer. München (Reinhardt) 1911. 45 p. 8°. M. Fig. 2 M.

- Lindinger, Leonhard**, Beiträge zur Kenntnis der Schildläuse und ihrer Verbreitung. 2. (Forts.) (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. H. 3. p. 86—90; H. 4. p. 126—130; H. 5/6. p. 172—177.)
- Marchal, Paul, et Feytaud, J.**, Sur un parasite des oeufs de la *Cochylis* et de l'*Eudémis*. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 14. p. 633—636. 1 Fig.)
- , Sur un parasite des oeufs de la *Cochylis* et de l'*Eudémis*. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 930. p. 419—421.)
- Newstead, Robert**, On a collection of Coccidae and Aleurodidae, chiefly African, in the collection of the Berlin Zoological Museum. (Mitt. a. d. Zool. Mus. Berlin. Bd. 5. 1911. H. 2. p. 153—174. 12 Fig.)
- Nüßlin, Otto**, Phylogenie und System der Borkenkäfer (Forts.). (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. H. 3. p. 77—82; H. 4. p. 109—112.)
- Schouteden, H.**, Insectes nuisibles aux plantations en Afrique 1: Hémiptères parasites du Cacaoyer. (Rev. Zool. Africaine. Vol. 1. 1911. Fasc. 1. 2 Taf.)
- Zahlbruckner, A.**, Schedae ad „*Kryptogamas exsiccatas*“ editae a Museo Palatino. (Ann. d. K. K. naturhistor. Hofmuseums. Bd. 24. 1910—1911. p. 269—292.)

Biologie.

- Baudrexel, A.**, Über die Bedeutung der Enzyme für den Lebenshaushalt. (Forts.) (Wchschr. f. Brauerei. 1911. No. 43. p. 518—520.)
- Boselli, J.**, Étude de l'inulase d'*Aspergillus niger*. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Année 25. 1911. No. 9. p. 695—704.)
- Bürgers**, Über Auflösungserscheinungen an Bakterien. (Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Ref. Bd. 50. 1911. Beih. (Ber. Freie Vereinig. f. Mikrobiol.) p. 125—127.)
- Cépède, Casimir**, Le cycle évolutif et les affinités systématiques de l'Haplosporidie des *Donax*. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 9. p. 507—509.)
- Curtis, Winterton C.**, The life history of the *Scolex polymorphus* of the Woods Hole Region. (Journ. of Morphol. Vol. 22. 1911. No. 3. p. 819—852. 13 Fig.)
- Delbrück, M., u. Mohr, O.**, Gärungsgewerbe. (Jahrb. d. Chemie. Jg. 20. 1910. Braunschweig 1911. p. 395—415.)
- Euler, Hans, u. Lundeqvist, Gunnar**, Zur Kenntnis der Hefegärung. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 72. 1911. H. 1/2. p. 96—112.)
- Georgevitch, Pierre**, Formation et germination des spores du *Bacillus thermophilus vragensis* Georgevitch. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 18. p. 837—839. 1 Fig.)
- Jablonowski, J.**, Über die Einzahl im Eierstocke des Traubenwicklers. (Naturwissensch. Ztschr. f. Forst- u. Landw. 1911. No. 10. p. 467—472.)
- Kindborg, Amy**, Über Bakterienwachstum auf kalkhaltigen Nährböden. (Berliner klin. Wehnschr. Jg. 48. 1911. No. 40. p. 1800.)
- Küster, Ernst**, Die Gallen der Pflanzen. Ein Lehrbuch für Botaniker und Entomologen. Leipzig (Hirzel) 1911. X, 437 p. 158 Fig. 16 M.
- Kufferath, H.**, Note sur les tropismes du *Bacterium Zopfii* Kurth. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Année 25. 1911. No. 8. p. 601—618. 3 Taf.)
- Lebedeff, A.**, La zymase est-elle une diastase? (Ann. de l'Inst. Pasteur. Année 25. 1911. No. 9. p. 682—694.)
- Lintner, C. J., u. v. Liebig, H. J.**, Über die Reduktion des Furfurols durch Hefe bei der alkoholischen Gärung. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 72. 1911. Heft 5/6. p. 449—454.)
- Lipman, Jacob G.**, Suggestions concerning the terminology of soil bacteria. (Bot. Gaz. Vol. 51. 1911. No. 6. p. 454—460.)
- Maire, René**, La biologie des Urédinales. (État actuel de la question.) (Progressus rei botanicae. Bd. 4. 1911. Heft 1. p. 109—162.)
- Marchal, Paul**, L'oblitération de la reproduction sexuée chez le *Chermes piceae* Ratz. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 13. p. 603—604.)
- Navassart, E.**, Über den Einfluß der Antiseptica bei der Hefeautolyse. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 72. 1911. Heft 1/2. p. 151—157.)
- Owen, W. L.**, Über eine neuentdeckte bakterielle Zersetzung der Sukrose. (Journ. of Ind. a. Engin. Chem. 3. 1911. p. 481—486.)
- Rocchi, G.**, Über die sogenannten Riesen- oder zusammengesetzten Geißeln der Bakterien. (Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. Heft 3/4. p. 174—175.)
- Rübsaamen, Ew. H.**, Über deutsche Gallmücken und Gallen (Forts.). (Ztschr. f. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. Heft 3. p. 82—85; Heft 4. p. 120—125; Heft 5/6. p. 168—172.)
- Rumbold, Caroline**, Über die Einwirkung des Säure- und Alkaligehaltes des Nährbodens

- auf das Wachstum der holzzersetzenden und holzverfärbenden Pilze; mit einer Erörterung über die systematischen Beziehungen zwischen *Ceratostomella* und *Graphium*. (Naturwissensch. Ztschr. f. Forst- u. Landw. 1911. No. 10. p. 429—466. Mit 22 Fig.)
- Slator, Artur**, Über den Verlauf der alkoholischen Gärung. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. 34. 1911. No. 40. p. 499—503; Journ. of the Inst. of brew. 1911. p. 147.)
- Stephan, A.**, Über Dauerhefepräparate. (Apotheker-Ztg. Bd. 26. 1911. p. 754—755; p. 764—766.)
- Wangerin, W.**, Über den Hausschwamm. (Med. Klinik. Jg. 7. 1911. No. 41. p. 1587—1589.)
- , Über die Pilzsymbiose der Pflanzenwurzeln (Mykorrhiza). (Med. Klinik. Jg. 7. 1911. No. 45. p. 1735—1738.)
- Young, C. C.**, and **Sherwood, N. P.**, Der Einfluß von kohlensauren Getränken auf Bakterien. (Journ. of Ind. a. Engin. Chem. 3. 1911. p. 495—496.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

- Dzierzbicki, A.**, Beiträge zur Bodenbakteriologie. (Sonderabdruck aus Bull. de l'Acad. d. Sciences de Cracovie. Krakau 1910; Ref.: Biederm. Centralbl. 1911. Heft 10. p. 661.)
- Frankland, C. F.**, The bacteriology of water, its present position. (Journ. Soc. chem. industry 1911. No. 6. p. 319.)
- Klut, Hartwig**, Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle. 2. verb. u. verm. Aufl. Berlin (Springer) 1911. VI, 150 p. 8°. 4 M.
- v. Knaut, Arth.**, Tabellen zur Bestimmung der Trinkwasserbakterien. VII, 98 p. gr. 8°. Straßburg (J. Singer) 1911. 5 M.
- Liversedge, J. F.**, Properties of some culture media used in bacteriological examination of water. (Journ. Soc. chem. industry. 1911. No. 5. p. 247.)
- Spät, Wilhelm**, Über die Zersetzungsfähigkeit der Bakterien im Wasser. Versuche über eine neue Methode der Wasserbeurteilung. (Arch. f. Hyg. Bd. 74. 1911. Heft 6. p. 237—288.)

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- Conn, H. J.**, Bacteria of frozen Soil. II. p. 70.
- Grimm, Max**, Die Hauptphasen der Milchsäuregärung und ihre praktische Bedeutung, p. 65.
- Hoffmann, A. W. Hans**, Zur Entwicklungs-

geschichte von *Endophyllum Sempervivi*, p. 137.

Zipfel, Hugo, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen, p. 97.

Neue Literatur, p. 158.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 6. Dezember 1911.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 32. No. 6|12.

Ausgegeben am 10. Januar 1912.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus der pflanzenphysiologischen und -pathologischen Abteilung der Schweizerischen Versuchsanstalt in Wädenswil.

Versuche über die Wachstumsbedingungen und Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes.¹⁾

Von O. Schneider-Orelli.

Die Untersuchung sollte in erster Linie Anhaltspunkte geben zur Erklärung der Tatsache, daß im allgemeinen im Herbst andere Fäulnispilze im Obstkeller vorherrschen als um Neujahr herum und gegen das Frühjahr hin. Um nur das auffälligste Beispiel zu nennen: Im Herbst sind *Monilia kranke* und nach Neujahr *Gloeosporium album*-faule Früchte in unsern Obstkellern häufige Erscheinungen; dagegen findet man den letzterwähnten Pilz kaum unter den herbstlichen Fäulniserregern, wogegen *Monilia fructigena* im Winter im Obstkeller keine Rolle mehr spielt. Es schien mir der Mühe wert, diesen nicht ohne weiteres verständlichen Eigentümlichkeiten nachzugehen.

Es war vorerst das Wachstum der Obstfäulnispilze bei verschiedenen Temperaturen zu untersuchen, da es von vornherein wohl möglich schien, daß für das Auftreten oder Nichtauftreten der verschiedenen Fäulniserreger während der Obstlagerung die Temperaturverhältnisse von großer Bedeutung sein könnten. Dies um so eher, als ich früher gezeigt hatte (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 365), daß *Penicillium italicum* Wehm., der häufigste Fäulnis pilz der Südfrüchte, bei Zimmertemperatur imstande ist, auch Äpfel und Birnen zum Faulen zu bringen, daß dieser Pilz aber für unser Lagerobst nicht in Betracht fällt, weil die Temperatur der Obstkeller im Winter gewöhnlich unter 10° C steht. Konnten nicht vielleicht für das regelmäßige Verschwinden von *Monilia fructigena* aus dem Obstkeller während des Winters ähnliche Temperaturfragen maßgebend sein?

1. Das Wachstum der Obstfäulnis pilze in Plattenkulturen bei verschiedenen Temperaturen. Zur Verwendung kamen Reinkulturen von *Penicillium glaucum* Lk., *Botrytis cinerea* Pers., *Monilia fructigena* Pers., *Gloeosporium fructigenum* Berk., *Gl. album* Osterw., *Fusarium putrefaciens* Osterw., *Cladosporium herbarum* Lk., *Mucor piriformis* Fisch. und *Rhizopus nigricans* Ehrbg. Mit den angeführten Pilzen sind — so weit bekannt — die Fäulniserreger erschöpft, denen in der Schweiz bei der Obstlagerung praktische Bedeutung zukommt. Aus diesen Reinkulturen brachte ich nun kleine Mycelflöckchen in die Mitte der Petrischalen, welche frisch erstarrte Birnsaft-

¹⁾ Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1911. p. 225—246.

gelatine enthielten (je 10 ccm 15-proz. Gelatine und $7\frac{1}{2}$ Proz. Teilersbirnsaft), ein Substrat, welches sich erfahrungsgemäß sehr gut für Schimmelpilzkulturen eignet. Die geimpften Schalen kamen dann sofort in die verschiedenen Fächer eines Panumschen Thermostaten zu 18, 14, $9\frac{1}{2}$ und $4\frac{1}{2}$ ° C, wobei die maximalen Schwankungen 1° nach oben und unten betrugen und ferner in einen Eisraum zu konstant 0°. $9\frac{1}{2}$ und $4\frac{1}{2}$ ° entsprechen ungefähr den Durchschnittstemperaturen, welche im Spätherbst und Winter in unseren Obstkellern herrschen, 14° ist die Temperatur des Vorherbstes und 18° die Zimmertemperatur, bei der frühere Autoren meist ihre Beobachtungen über das Wachstum der Obstfäulnispilze ausführten. Die Kontrolle des Pilzwachstums erfolgte in der Weise, daß der größte Durchmesser der heranwachsenden Kultur gemessen wurde, bis dieselbe die ganze Schale im Durchmesser von 9 cm überwachsen hatte. Jeder Versuch wurde wenigstens doppelt ausgeführt und die Zahlen in der Tabelle 1 geben die daraus resultierenden Mittelwerte in cm. Es mag noch beigefügt werden, daß die Parallelversuche stets gut miteinander übereinstimmten.

Tabelle 1.

Wachstum der Obstfäulnispilze in Plattenkulturen bei verschiedenen konstanten Temperaturen.

(Die Zahlen geben den Durchmesser der Pilzkultur in cm; die Abkürzung g. Sch. zeigt an, daß die ganze Schale überwachsen ist.)

Versuchstemp. im Panumschen Thermostaten	Zahl der Tage nach Ver- suchs- beginn	<i>Penicillium</i> <i>glaucum</i>	<i>Botrytis</i> <i>cinerea</i>	<i>Monilia</i> <i>fructigena</i>	<i>Gloeosporium</i> <i>fructigenum</i>	<i>Gloeosporium</i> <i>album</i>	<i>Fusarium</i> <i>putrefaciens</i>	<i>Cladosporium</i> <i>herbarum</i>	<i>Mucor</i> <i>piriformis</i>	<i>Rhizopus</i> <i>nigricans</i>
		cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm
18° C	3	1,1	5,0	1,8	1,2	1,3	1,8	0,5	5,5	4,9
	6	2,5	g. Sch.	3,9	3,0	3,5	4,5	1,9	g. Sch.	g. Sch.
	12	5,5		6,9	5,8	6,4	7,2	3,5		
	20	g. Sch.		g. Sch.	g. Sch.	g. Sch.	g. Sch.	4,6		
14° C	3	0,9	2,4	1,0	0,7	0,6	1,3	0,4	2,5	2,0
	6	2,0	6,5	2,4	1,5	1,6	3,5	1,3	g. Sch.	g. Sch.
	12	4,2	g. Sch.	5,6	4,1	4,3	7,0	2,5		
	20	7,5		g. Sch.	7,2	7,0	g. Sch.	3,7		
9,5° C	6	1,2	3,2	1,7	0,6	0,9	2,5	0,7	4,5	3,0
	20	4,0	g. Sch.	6,5	3,5	3,4	7,5	2,9	g. Sch.	g. Sch.
	35	6,3		g. Sch.	5,8	6,0	g. Sch.	3,9		
4,5° C	6	0,3	1,4	0,2	0	0,2	0,5	0,2	1,0	0,2
	20	2,1	g. Sch.	2,5	1,4	2,0	3,5	1,5	g. Sch.	1,5
	35	3,3		4,4	3,0	3,7	6,3	2,5		5,0
	45	4,9		—	4,1	4,9	7,1	3,1		6,7
0°	35	1,1	7,0	0,7	0,1	1,6	1,7	0,4	7,5	0

Das Hauptergebnis dieses Versuches ist die Feststellung der Tatsache daß alle untersuchten Fäulnispilze der Äpfel und Birnen bei einer Temperatur von $4\frac{1}{2}$ ° C, also unter Verhältnissen, wie sie im Winter im Obstkeller häufig eintreten noch recht gut zu wachsen vermögen, wenn auch natürlich

bedeutend langsamer als bei hohen Temperaturen. Es finden sich demnach bei unsern einheimischen Fäulnispilzen keine so hohen Temperaturansprüche wie bei *Penicillium italicum*. Selbst bei 0° ist das Pilzwachstum noch ein ganz überraschendes. Für weitere Einzelheiten, besonders auch über die Sklerotienbildung von *Botrytis* und die Nebenfruchtform von *Monilia* sei auf die Originalarbeit verwiesen.

Da in diesen Versuchen beim Impfen der Platten häufig gar keine Sporen sondern nur Mycelflöckchen übertragen wurden, so mußte es allerdings noch unentschieden bleiben, ob das Pilzwachstum bei den tieferen Temperaturen überhaupt nur von übertragenen Mycelteilchen, oder aber in einzelnen Fällen auch von ausgekeimten Sporen herrührte. Denn es war von vornherein nicht ausgeschlossen, daß bei tieferen Temperaturen das Mycel wohl deutliches Wachstum zeigen könnte, ohne daß hier die Sporen noch auskeimen würden. Besonders nahe lagen solche Vermutungen für jene Fäulnispilze, die wie *Monilia* nur im Herbst im Obstkeller auftreten, also zu einer Zeit, wo die Lagertemperatur eine noch höhere ist. In diesem Falle wäre das Verschwinden solcher Pilzarten im Laufe des Winters und das Vorherrschen anderer, deren Sporen auch bei tieferen Wärmegraden noch auskeimen könnten, leicht verständlich gewesen.

Zur Entscheidung dieser Frage unternahm ich einige vergleichende Keimungsversuche mit den Sporen der in Tabelle 1 genannten Fäulnispilze, indem ich dieselben in Tropfen von stark verdünntem Teilersbirnsaft verteilte und in feuchten Kammern zur Hälfte in 16°, zur andern Hälfte in 4° verbrachte. Es zeigte sich, daß die Keimung bei der tieferen Versuchstemperatur nur verzögert wird, indem auch bei 4° nach einigen Tagen alle Tropfen zahlreiche Keimungen aufwiesen.

Ein weiterer Versuch sollte zeigen, ob bei dem einen oder anderen Fäulnispilze vielleicht die Belichtungsverhältnisse von wesentlichem Einflusse auf die Sporenkeimung seien. Doch boten die Keimungen ganz übereinstimmende Bilder, ob die Objektträger im Laboratorium im Dunkelkasten oder am Tageslicht aufgestellt waren, so daß auch dieser Umstand für die Sporenkeimung der Fruchtparasiten nicht weiter in Betracht fällt.

2. Infektionsversuche mit Früchten von ungleicher Lagerreife und bei verschiedenen Temperaturen. Es war notwendig, das Wachstum der Fäulnispilze auch in geimpften Früchten zu studieren. In Berücksichtigung der Verhältnisse der praktischen Obstlagerung wählte ich als Versuchstemperaturen 14 und 4½° C. In dem am 16. Februar begonnenen Hauptversuche wurden Lageräpfel folgender Sorten verwendet: 1. Horbeneräpfel in etwas überreifen Exemplaren, 2. Harrys Goldreinetten, lagerreif und 3. Grüne Stettiner. Von der zuletzt genannten, sehr späten Sorte standen mir Früchte von zwei Standorten zur Verfügung; die in der folgenden Tabelle mit a) bezeichneten Exemplare waren der Lagerreife schon bedeutend näher als die Äpfel b). *Mucor piriformis*, *Rhizopus* und *Cladosporium* wuchsen auf den drei genannten Apfelsorten nicht; die beiden erstgenannten treten als gelegentliche Fäulniserreger besonders an stark beschädigten und dann auch an überreifen Birnen auf. Ihre Temperaturansprüche, besonders diejenigen von *Mucor piriformis* (Tabelle 1) würden eine Entwicklung im Obstkeller während des Winters gestatten. *Cladosporium herbarum*, das bisher noch nicht als Fäulniserreger des Obstes bekannt war, vermag, wie meine Versuche zeigten, auf gewissen Äpfeln und Birnen (besonders

Deutscher Goldpepin und Esperens Bergamotte) schwarze Faulflecke von $\frac{1}{2}$ —3 cm Durchmesser zu erzeugen, doch ist sein Fruchtparasitismus immerhin ein recht beschränkter, denn in den Versuchsfrüchten der beiden folgenden Tabellen wuchs er gar nicht und braucht deshalb auch nicht weiter berücksichtigt zu werden.

Die bei 14 und $4\frac{1}{2}^{\circ}$ erzielten Versuchsergebnisse waren folgende:

Tabelle 2.
Infektionsversuch bei 14° C.
Beginn am 16. II. 1910.
(Jeder Apfel wird an zwei gegenüberliegenden Stellen infiziert.)

Fäulnispilz	Apfelsorte	Durchmesser der Faulflecke	
		am 1. III. cm	am 9. III. cm
<i>Penicillium glaucum</i>	Horbenäpfel	ganz durchfault	
	Harrys Goldreinette	5,5; 6,0	ganz durchfault
	Grüner Stettiner a	4,5; 5,2	ganz durchfault
	„ „ b	4,2; 4,3	5,5; 5,7
<i>Botrytis cinerea</i>	Horbenäpfel	ganz durchfault	
	Harrys Goldreinette	ganz durchfault	
	Grüner Stettiner a	5,2; 5,5	ganz durchfault
	„ „ b	4,5; 6,5	5,8; 7,1
<i>Monilia fructigena</i>	Horbenäpfel	— ¹⁾	ganz durchfault
	Harrys Goldreinette	—	ganz durchfault
<i>Gloeosporium fructigenum</i>	Horbenäpfel	2,0; 2,7	4,4; 4,6
	Harrys Goldreinette	1,5; 1,7	3,5; 3,7
	Grüner Stettiner a	0,9; 1,4	2,8; 2,9
	„ „ b	0,7; 0,9	2,0; 2,1
<i>Gloeosporium album</i>	Horbenäpfel	0,9; 1,4	2,1; 2,3
	Harrys Goldreinette	0,8; 0,9	1,8; 2,0
	Grüner Stettiner a	0,7; 1,2	1,2; 1,5
	„ „ b	0,7; 1,0	1,4; 1,6
<i>Fusarium putrefaciens</i>	Horbenäpfel	1,1; 2,0	2,9; 3,8
	Harrys Goldreinette	1,1; 1,3	2,6; 3,0
	Grüner Stettiner a	0,2; 0,4	1,0; 1,2
	„ „ b	0 0	0 ; 0,8

3. Untersuchungen über die Pilzflora gesunder Äpfel und Birnen und über den Keimgehalt der Luft im Obstgarten und im Obstkeller. Es wurden möglichst gleichbeschaffene, gesunde Früchte bestimmter Sorten, die einen sofort nach dem Pflücken, die anderen nach kürzerer oder längerer, bis 6monatlicher Lagerung im Obstkeller in sterilisiertem Wasser abgebürstet, hierauf entsprechende Verdünnungen hergestellt, ein bestimmtes Quantum der keimhaltigen Flüssigkeit mit Birnsaftgelatine vermischt und in Petrischalen ausgegossen.

Diese Versuche ergaben nun insofern nicht in jeder Beziehung den erwarteten Aufschluß über die Verteilung der Keime der Obstfäulniserreger, als auf all den untersuchten Äpfeln und Birnen die enormen Mengen von saprophytisch auf den Fruchtschalen lebenden Pilzen, *Cladosporium*,

¹⁾ Nicht kontrolliert.

Dematium, Hefen und sterilen Pilzmycelien sich störend geltend machten und die weniger zahlreich vorhandenen Keime der Fruchtparasiten in den Plattenkulturen nicht aufkommen ließen. Nur dem sicheren Nachweis einer deutlichen Zunahme der *Penicillium* sporen auf der Schale gesunder, monatelang gelagerter Lageräpfel, — was auf die Bestäubung der Früchte im Obstkeller zurückzuführen ist — kommt einige Bedeutung zu.

Tabelle 3.
Infektionsversuch bei 4,5° C.
Beginn am 16. II. 1910.

Fäulnispilz	Apfelsorte	Durchmesser der Faulflecke	
		am 1. III. cm	am 9. III. cm
<i>Penicillium glaucum</i>	Horbenäpfel	1,5; 1,6	3,9; 4,0
	Harrys Goldreinette	0,7; 1,1	2,2; 2,8
	Grüner Stettiner (b)	0,2; 0,3	0,9; 1,0
<i>Botrytis cinerea</i>	Horbenäpfel	3,0; 3,2	5,6; 5,8
	Harrys Goldreinette	2,2; 2,6	5,6; 6,3
	Grüner Stettiner (b)	1,2; 1,6	4,1; 4,8
<i>Monilia fructigena</i>	Horbenäpfel	2,2; 2,7	5,2; 5,7
	Harrys Goldreinette	2,4; 3,0	5,8; 6,1
	Grüner Stettiner (b)	2,4; 3,2	5,2; 5,9
<i>Gloeosporium album</i>	Horbenäpfel	0,6; 1,0	0,8; 1,4
	Harrys Goldreinette	0,4; 0,7	1,1; 1,2
	Grüner Stettiner (b)	0,2; 0,3	0,8; 1,0

Gloeosporium fructigenum und *Fusarium putrefaciens* wuchsen bei 4,5° auf den oben genannten und auch auf anderen Lagerfrüchten nicht mehr.

Parallel mit der Bestimmung des Keimgehalts der Fruchtoberflächen gingen auch Zählungen der Keime in der Luft des Obstkellers und des Obstkellers, um festzustellen, ob auch hier zu anderen Zeiten andere Pilze vorherrschen. Zudem konnten diese Versuche ein gutes Bild von der Art und Menge der Pilzkeime geben, die aus der Luft auf die Früchte niederfallen. Es zeigte sich, daß *Penicillium glaucum* in der Luft des Obstkellers zu jeder Jahreszeit viel häufiger ist als im Freien, wogegen *Botrytis* keime im Obstkeller und im Obstgarten ungefähr gleich stark vertreten sind, und der *Botrytis* gehalt der Luft macht zudem im Laufe des Jahres auch geringere Schwankungen durch als bei *Penicillium*. *Monilia* ließ sich von Mitte Sommer bis in den Herbst hinein in der Luft des Obstgartens nachweisen; zeitweise waren ihre Sporen hier häufiger als diejenigen von *Penicillium* und *Botrytis*. Die Luftuntersuchungen vom Sommer und Herbst weisen mit aller Deutlichkeit darauf hin, daß die Früchte schon an den Bäumen mit größeren Mengen von *Penicillium*-, *Botrytis*- und *Monilia* sporen bestäubt werden — von *Cladosporium* ganz abgesehen — und daß häufig auch *Fusarium* keime aus der Luft niederfallen.

Für die *Gloeosporien* dagegen kommt die Verbreitung durch Luftströmungen kaum in Betracht, denn ihre Konidien liegen in einer schleimigen Flüssigkeit. So erklärt es sich, daß selbst zu einer Zeit, wo *Gloeosporium* faule Früchte mit zahllosen Konidien im Obstkeller liegen,, in

der Luft des Lagerraumes dennoch keine *Gloeosporium*-Keime nachzuweisen sind. An der Verschleppung der *Gloeosporium*-Konidien im Obstkeller scheinen sich besonders Milben und eine *Anthocoris*-Art zu beteiligen.

4. **Schl u ß f o l g e r u n g e n.** Die Dauer des Frischbleibens des Obstes hängt bekanntlich von verschiedenen Faktoren ab, einerseits vom früheren oder späteren Eintreten des natürlichen Alterstodes der Zellen des Fruchtfleisches und andererseits vom Auftreten der Fäulnispilze. Beide Faktoren werden ihrerseits durch die äußeren Verhältnisse, vor allem durch Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit beeinflusst. Wir haben es demnach innerhalb gewisser Grenzen in der Hand, durch Regulation dieser äußeren Verhältnisse auch die Dauer des Frischbleibens zu beeinflussen. Alle jene Faktoren, welche die Lebenstätigkeit hemmen und damit auch den Stoffverbrauch der Früchte und das Wachstum der Fäulnispilze, wirken in günstigem Sinne auf die Haltbarkeit des Lagerobstes ein; daher die guten Ergebnisse der künstlichen Kühlagerung.

Neben diesen äußeren Faktoren bestimmen dann aber auch innere Eigenschaften, Sorteneigentümlichkeiten, den Grad der Haltbarkeit des Obstes, was zur bekannten Unterscheidung der Früchte in Herbst- und Wintersorten geführt hat. Die tieferen Gründe für dieses ungleiche Verhalten der verschiedenen Sorten kennen wir allerdings noch nicht; wir wissen nur, daß es sich dabei um Eigenschaften des Protoplasmas handelt, welche beim Veredeln mit dem Pfropfreis vererbt werden.

Die größere oder geringere Neigung des Obstes zur Fäulnis hängt in vielen Fällen zweifellos vom Reifegrad der Früchte ab, so daß dann das Auftreten von Faulflecken umso wahrscheinlicher ist, je näher die Zellen des Fruchtfleisches ihrem natürlichen Alterstode stehen. Doch muß man sich auch hier vor zu weit gehenden Verallgemeinerungen hüten; es ist ja bekannt, daß *Monilia fructigena* gerade an den unreifen und baumreifen Früchten häufig, am Lagerobst dagegen nach einiger Zeit gar nicht mehr auftritt und daß andererseits oft überreife, durch Wasserverlust geschrumpfte Äpfel infolge ihres geringen Wassergehalts kaum mehr faulen, obschon die Zellen dem natürlichen Absterbeprozess doch nicht mehr fern stehen. Die Obstfäulnis ist zweifellos als Ganzes genommen, eine ungemein komplizierte Erscheinung, bei welcher eine ganze Reihe mitbestimmender Faktoren zusammen spielen, die bei Erklärungsversuchen auch möglichst gleichmäßig berücksichtigt werden müssen.

Übergehen wir an Hand der vorliegenden Versuche kurz die einzelnen Obstfäulnispilze und suchen wir für die Obstfäulnisfrage daraus einige allgemeine Gesichtspunkte zu gewinnen.

Wenigstens im Obstkeller der häufigste Fäulniserreger ist *Penicillium glaucum*. Sein Fruchtparasitismus ist allerdings nicht ein nahezu unbeschränkter, wie derjenige von *Monilia*, vielmehr befällt *Penicillium* die Äpfel und Birnen im allgemeinen erst nach eingetretener Baumreife. Man findet diesen Pilz eigentlich recht selten in Äpfeln und Birnen, die noch am Baume hängen. Und auf den spätesten Sorten im Obstkeller hat *Penicillium*, wenigstens in der ersten Lagerungszeit, noch recht Mühe, fortzukommen, besonders auffällig trat dies in Infektionsversuchen mit Bohnäpfeln hervor. Große Unterschiede macht es auch bei tiefer Temperatur (Tabelle 3) zwischen überreifen und noch nicht völlig lagerreifen Äpfeln. Die gleiche Tabelle zeigt aber zugleich, daß *Penicillium*

auch bei 4° im allgemeinen in den Früchten doch verhältnismäßig schnell wächst, so daß sein Wachstum im Obstkeller bei allen Temperaturen über 0° nur verzögert, nicht unterbrochen wird. Von noch größerer praktischer Bedeutung ist aber der weitere Umstand, daß *Penicillium* auf Äpfeln und Birnen leicht fruktifiziert und dies auch noch bei den tiefen Winter-temperaturen im Obstkeller, so daß stets eine große Menge neuer Konidien produziert und bei ungenügender Kontrolle im Lagerraum verstäubt werden kann. So darf es uns nicht wundern, daß dieser Pilz während der ganzen Lagerungszeit im Obstkeller als Fäulniserreger auftritt, bald mehr, bald weniger, je nach der Sorgfalt, womit angefaulte Früchte ausgesucht und entfernt werden.

Botrytis cinerea ist nach den vorstehenden Versuchen insofern der wirksamste Obstfäulnispilz, als sein Mycel die Lageräpfel stets in der kürzesten Zeit durchwächst, und zwar ist dies sowohl bei 14° wie auch bei 4° der Fall; selbst in den bei 0° aufgestellten Plattenkulturen eilt *Botrytis* den anderen Fäulnispilzen, von *Mucor* abgesehen, weit voraus. *Botrytis* ist auch nicht wählerisch in der Beschaffenheit der Früchte. Wie Tabelle 3 zeigt, macht sie zwischen früheren und späten Sorten weniger Unterschiede als *Penicillium*. Da nun *Botrytis* auch auf späten Lageräpfeln und selbst bei tiefer Temperatur noch ein so ungemein wirksamer Fäulniserreger ist, so wird es auf den ersten Blick nicht recht verständlich, warum dieser Pilz im Obstkeller keine bedeutendere Rolle spielt, als es in Wirklichkeit der Fall ist. Wie kommt es, daß hier *Botrytis* nicht erfolgreicher mit *Penicillium* und mit *Gloeosporium album* zu konkurrieren vermag, da sie die letzteren in bezug auf die Wachstums-schnelligkeit in den Früchten doch bedeutend übertrifft?

Nun, die Erklärung scheint mir zur Hauptsache darin zu liegen, daß *Botrytis* auf Äpfeln und Birnen im Keller eigentlich nur selten fruktifiziert. (Von Laboratoriumsbeobachtungen an Früchten unter Glasschalen müssen wir hier natürlich absehen). Wahrscheinlich verhindert die Fruchthaut oft das Herauswachsen von Konidienträgern. Andererseits scheint bei tiefen Temperaturen *Botrytis* überhaupt die Sklerotienbildung der Konidien-erzeugung vorzuziehen. *Botrytis* faule Früchte können also immerhin während der ganzen Lagerungszeit entstehen, es sind, wie die Versuche zeigten, auch stetsfort einzelne *Botrytis* keime in der Luft des Obstkellers; dagegen wird dieser Pilz hier nur ausnahmsweise und wohl nur bei Vorherbst-temperaturen eigentliche Fäulnisepidemien verursachen, da eine reichliche Sporenbildung für gewöhnlich unterbleibt.

Und ganz ähnlich liegen die Verhältnisse für *Monilia fructigena*. Ja, dieselbe wäre im Grunde genommen auch im Lagerkeller weitaus der gefährlichste Obstfäulnispilz, weil das Reifestadium der Früchte auf ihr Wachstum sozusagen ohne Einfluß ist. Denn sie befällt nicht nur unreife Früchte am Baume, sondern durchwächst auch in kürzester Zeit Lageräpfel (Tabelle 2 u. 3) von verschiedenem Reifegrad. Wohl zeigt *Monilia* sich gegenüber tiefen Temperaturen etwas empfindlicher als *Botrytis*, besonders die Kulturen bei 0° beweisen das deutlich, dennoch würde dies nicht verhindern, daß *Monilia* auch im Winter im Lagerkeller eine bedeutende Entwicklung erlangen könnte (Tabelle 3). Es wurde aber schon oben erwähnt, daß dieser Pilz zu dieser Jahreszeit im Obstkeller überhaupt keine Rolle spielt, daß er vielmehr schon lange vor Neujahr vollständig daraus verschwindet. Auch dieser Umstand hängt wohl in erster Linie mit dem Ausbleiben der Sporenbildung zusammen,

denn die *Monilia*fructifikation wird sowohl durch die ungünstigen Beleuchtungsverhältnisse des Obstkellers als besonders auch durch tiefere Temperaturen unterdrückt.

Monilia, *Botrytis* und *Penicillium* sind an Äpfeln und Birnen im Herbst die Wundparasiten par excellence. Sie nehmen zu dieser Zeit sozusagen alle Infektionsgelegenheiten in Beschlag, und wir finden bei uns am Baum und in der ersten Zeit der Lagerung in den Faulstellen der Früchte fast immer einen der drei genannten Pilze, vorwiegend *Monilia* und *Penicillium*, die erstere in hohem Maße begünstigt durch ihre Fähigkeit, sich auch in unreifen Früchten zu entwickeln und durch ihr rasches Wachstum, *Penicillium* dagegen vor allem durch seine ungemein reichliche Fruktifikation unter den verschiedensten Verhältnissen.

Gloeosporium fructigenum wächst auf den Lageräpfeln bei 14 ° gut, immerhin doch bedeutend langsamer als *Penicillium* (Tabelle 2). Es macht zwischen überreifen und späten Apfelsorten deutliche Unterschiede und fruktifiziert bei dieser Temperatur immer leicht. Dagegen versagt es in den Impfversuchen mit den gleichen Äpfeln bei 4½° vollständig, oder wächst hier doch so langsam, daß das Resultat praktisch gleich 0 ist. Das erklärt uns auch, warum dieser Pilz gewöhnlich nur vor Neujahr oder dann gegen das Frühjahr hin im Obstkeller auftritt.

Ganz anders dagegen *Gloeosporium album*. Dasselbe wächst bei höherer Temperatur in den Früchten langsamer als *Gloeosporium fructigenum* (Tabelle 2), ist ihm aber dafür bei tiefen Temperaturen überlegen. Bei 4½° wächst *Gloeosporium album* auf der spätesten Sorte nahezu gleich schnell wie *Penicillium* und in den Plattenkulturen bei 0° ist es demselben sogar überlegen. Dazu kommt noch der weitere Umstand, daß *Gloeosporium album* auch bei tiefer Temperatur sehr reichlich fruktifiziert, sodaß im Verlaufe der Obstlagerung, nachdem *Monilia*, *Botrytis* und *Gloeosporium fructigenum* aus den oben angeführten Gründen ganz oder doch zur Hauptsache als Konkurrenten ausgeschaltet sind, *Gloeosporium album* sich mit Erfolg neben *Penicillium* behaupten kann. Dabei ist besonders auch zu berücksichtigen, daß die Verbreitung der Conidien von *Gloeosporium album*, wie übrigens auch jener von *G. fructigenum* infolge der reichlichen Schleimausscheidung der Sporenlager zweifellos durch Tiere viel leichter erfolgt, als bei *Penicillium*, welch letzteres zur Hauptsache auf Übertragung durch die Luft angewiesen ist, und daß dadurch für *Gloeosporium* Infektionsgelegenheiten reserviert bleiben, z. B. auf der unteren Seite der gelagerten Früchte, die den anderen Fäulnispilzen mehr oder weniger entzogen sind. Und als weiterer Umstand, der das Hervortreten der *Gloeosporium album*-Fäule im Verlaufe der Lagerung begünstigt, sei noch hervorgehoben, daß solche Faulstellen infolge ihres langsamen Wachstums oft erst zu einer Zeit auffällig werden, wo die von anderen, schneller wachsenden Fäulnispilzen angesteckten Früchte schon lange aus dem Obstkeller entfernt worden sind.

Fusarium putrefaciens zeigte sich in den Impfversuchen mit Äpfeln in bezug auf den Reifegrad derselben sehr wählerisch. Während es bei 14 ° auf dem überreifen Apfel rascher wuchs als *Gloeosporium album*, blieb es auf der spätesten Sorte dagegen weit hinter diesem zurück. In meinen Impfversuchen bei 4½° versagte es in allen Fällen vollständig, trotzdem es in Plattenkulturen selbst bei 0° noch zu wachsen vermochte. *Fusarium*

ist in seinen Ansprüchen demnach viel wählerischer, als etwa *Gloeosporium album* und erlangt deshalb im Obstkeller auch nicht eine so allgemeine Verbreitung wie dieses.

Aus dem Kaiser Wilhelms-Institut f. Landwirtschaft in Bromberg.

Ammoniak- und Salpeterassimilation durch Mikroorganismen des Bodens.¹⁾

Von J. Vogel.

Die Intensität der Ammoniak- und Salpeterfestlegung im Boden hat sich nach den bisherigen Untersuchungen abhängig gezeigt von der Art und Menge der vorhandenen Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen, sowie vom Wassergehalt, der Temperatur und der Durchlüftung des Bodens. Nach Arbeiten von Stutzer und Rothe²⁾, sowie von Lemmermann, Fischer und Husek³⁾ tritt ferner bei Gegenwart von kohlen-saurem Kalk und anderen Karbonaten der alkalischen Erden eine starke Förderung der Festlegung von Ammoniakstickstoff ein. Bei Umsetzungsversuchen in Lösungen gelangten diese Autoren zu der Ansicht, daß die häufig beobachtete Minderwirkung des schwefelsauren Ammoniaks gegenüber dem Salpeter zum Teil in einer vorübergehenden größeren Festlegung des Ammoniakstickstoffes ihre Ursache haben kann, und daß dieses Verhalten bei Gegenwart von kohlen-saurem Kalk noch etwas schärfer hervortritt.

Ich habe eine Anzahl von Umsetzungsversuchen in ähnlicher Anordnung wie Stutzer, Lemmermann und deren Mitarbeiter ausgeführt und bin zu den gleichen Resultaten gelangt. Es hat sich bei Anwendung zuckerhaltiger Nährflüssigkeiten eine deutliche, vielfach sogar eine starke Begünstigung der Ammoniakfestlegung durch Calciumkarbonat nachweisen lassen.

Zu ganz anderen Ergebnissen führte jedoch, wie schon hier bemerkt sein mag, das Studium der interessierenden Vorgänge im Boden selbst. Eine erhebliche Assimilation von Ammoniak- und Nitratstickstoff konnte allerdings bei der getroffenen Versuchsanordnung nicht erwartet werden, da von der Zugabe einer besonderen Kohlenstoffquelle zum Boden Abstand genommen wurde; immerhin hätte eine nachweisbare Vermehrung des unlöslichen Stickstoffes eintreten müssen, wenn der kohlen-saure Kalk bei den Erdversuchen in gleicher Richtung gewirkt hätte, wie bei den Versuchen in Flüssigkeiten, denn es liegen Beobachtungen vor, nach welchen auch in Erden, die nicht mit größeren Mengen leicht zersetzlicher kohlenstoffhaltiger Substanz beschickt wurden, doch in recht ansehnlichem Umfange Vorgänge der Ammoniakassimilation eintreten können.⁴⁾ Da es bei den im Folgenden zu beschreibenden Versuchen darauf ankam, die Wirkung des Kalziumkarbonats möglichst klar und unverwischt zum Ausdruck kommen zu lassen, so hielt ich es für richtiger, bei den Erdversuchen keinen Traubenzucker zuzugeben. In den Lösungen durfte er dagegen nicht fehlen, da in diesen sonst überhaupt keine üppige Bakterienentwicklung zu erzielen gewesen wäre.

Es ist daher in folgender Weise verfahren worden:

¹⁾ Siehe auch: Vogel, Über den Einfluß von kohlen-saurem Kalk auf die Umwandlung von Ammoniakstickstoff und Nitratstickstoff. (Mitt. d. Kais. Wilhelm Inst. f. Landwirtsch. in Bromberg. Bd. 3. H. 5.)

²⁾ Stutzer u. Rothe, Fühlings landw. Zeitg. 1904. p. 629.

³⁾ Lemmermann, Fischer u. Husek, Die landw. Versuchs-Stat. Bd. 70. 1909. p. 317.

⁴⁾ Siehe Löhnis, Handb. d. landwirtschaftl. Bakteriologie. p. 628.

I. Versuche in Flüssigkeiten.**Versuch I.**

Es wurden folgende Nährlösungen bereitet:

- 1) 10 g Ammoniumsulfat, enthaltend 2,103 g N.
- 2) 20 g Traubenzucker
2 g Dikaliumphosphat
0,4 g Kalziumchlorid
0,2 g Eisenchlorid
6 g Kalziumkarbonat
5 g Magnesiumkarbonat
1000 ccm destilliertes Wasser.

Die Lösungen 1 und 2 wurden getrennt sterilisiert, alsdann gemischt und in Mengen von je 100 ccm in Erlenmeyer-Kölbchen abgefüllt. Je 5 Kölbchen erhielten einen Zusatz von 5 ccm Bodenaufschwemmung (50 g Erde + 500 ccm Wasser) der Parzellen 12 (vor 2 Jahren mit Moorerde gedüngt) und 13 (ungedüngt) des Versuchsfeldes. Sämtliche Kölbchen wurden mit den entsprechenden Kontrollen im Brutschrank bei 22° C aufbewahrt. Nach etwa 8 Tagen war in allen Kulturen, besonders stark bei den mit Erdaufschwemmung von Parzelle 13 angesetzten, Gasbildung erfolgt. Ammoniakgeruch war nicht wahrnehmbar. Nach 16tägiger Aufbewahrung erfolgte die Bestimmung des Eiweißgehaltes der Kulturen nach der **Barnstein-Stutzer**schen Methode derart, daß der Kölbcheninhalt in Bechergläser übergespült, mit einigen Tropfen Alaunlösung und hierauf mit je 20 ccm der vorgeschriebenen Kupfersulfat- und Natronhydratlösungen versetzt wurde. Die entstandenen Niederschläge wurden nach dem Stehen über Nacht abgesaugt, ausgewaschen und nach **Kjeldahl** weiter behandelt.

Die folgende Tabelle gibt über die erhaltenen Werte Aufschluß:

Verwendete Erde	Einzelversuch	Nach 16 Tagen waren in Form von Eiweiß-N vorhanden mg	Im Mittel wurden in Eiweiß-N übergeführt		Bemerkungen
			mg	Proz. des ursprünglich vorh. NH ₃ -N	
Parz. 12	1	43,71	42,39	20,15	1) Die beiden Niederschläge mußten übergespült werden, weil die Filter beim Absaugen gerissen waren. Dadurch scheinen geringe Verluste entstanden zu sein.
	2	38,83 ¹⁾			
	3	44,64			
Parz. 13	1	34,64	33,43	15,90	
	2	28,13 ¹⁾			
	3	36,50			
	4	34,64			
	5	33,25			
Ungeimpfte ²⁾ Kontrolllösungen	1	3,95	4,30	—	2) Ohne Zusatz von Bodenaufschwemmung belassen.
	2	4,65			

Es ist mithin ein bemerkenswerter Übergang von Ammoniakstickstoff in Eiweißstickstoff erfolgt. Die Erde 12 wirkte stärker ammoniakfestlegend als die Erde 13.

Versuch II.

Je 100 ccm Nährlösung, enthaltend:

- 0,1 g Dikaliumphosphat
0,01 g Chlorkalzium

0,03 g Magnesiumsulfat
 0,01 g Chlornatrium
 0,001 g Eisenchlorid
 2 g Traubenzucker,

sowie ferner 200 mg Stickstoff in Form von Ammoniumsulfat bzw. Natriumnitrat wurden mit je 5 ccm Aufschwemmung eines guten, humosen Lehmbodens (Parzelle 16 des Versuchsfeldes) versetzt und teils mit, teils ohne Zusatz von Kalzium- und Magnesiumkarbonat ($0,6 \text{ g CaCO}_3 + 0,5 \text{ g MgCO}_3$) bei 22°C aufbewahrt. Es entstanden also 4 Reihen:

- 1) 200 mg NH_3 —N ohne $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$
- 2) 200 mg NH_3 —N mit $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$
- 3) 200 mg Nitrat—N ohne $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$
- 4) 200 mg Nitrat—N mit $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$.

Die Kulturen wurden mit den entsprechenden Kontrollen 19 Tage lang aufbewahrt und nach Ablauf dieser Zeit in der beschriebenen Weise weiter verarbeitet.

Schon nach sechstägigem Verweilen im Brutschrank waren die Flüssigkeiten aller Kölbchen ohne Karbonatzusatz mit einer starken Schimmelhaut bedeckt. Die mit kohlensaurem Kalk und Magnesiumkarbonat versetzten Kulturen zeigten überaus üppiges Bakterienwachstum.

Die erhaltenen Zahlenwerte sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Lfd. Nr.	Versuchs-Anordnung	Einzelversuche	Nach 19 Tagen waren in Form von Eiweiß-N vorhanden mg	Im Mittel wurden in Eiweiß-N übergeführt:	
				mg	Proz. des urspr. vorh. Stickstoffs
1	Nitrat-N ohne $\text{Ca CO}_3 + \text{Mg CO}_3$	1	24,18	24,65	12,33
		2	24,88		
		3	24,88		
2	Nitrat-N mit $\text{Ca CO}_3 + \text{Mg CO}_3$	1	24,18	25,93	12,97
		2	28,13		
		3	26,74		
		4	24,65		
3	Ammoniak-N ohne $\text{Ca CO}_3 + \text{Mg CO}_3$	1	16,51	15,19	7,59
		2	13,02		
		3	16,04		
4	Ammoniak-N mit $\text{Ca CO}_3 + \text{Mg CO}_3$	1	46,27	46,27	23,14
		2	48,13		
		3	38,83		
		4	51,85		
5	Kontrolle zu 1 ¹	—	0,15	—	—
	„ „ 2 ¹	—	0,05	—	—
	„ „ 3 ¹	—	0,15	—	—
	„ „ 4 ¹	—	0,15	—	—

Es ergab sich demnach, daß die Gegenwart von kohlensaurem Kalk (und Mg CO_3) die Festlegung von Nitratstickstoff nicht bemerkenswert beeinflußt hat, in sehr starkem Maße jedoch den Übergang des Ammoniakstickstoffs in Eiweißstickstoff. Während ohne Kalkzusatz nur 7,59% des Ammoniakstickstoffs festgelegt wurden, bewirkte die Anwesenheit der Karbonate von Kalk und Magnesia, daß eine dreimal so große Menge, nämlich 23,14% des Ammoniakstickstoff in die Eiweißform überging. Die Annahme, daß der Ammoniakstickstoff in stärkerem Maße festgelegt wird als der Nitratstickstoff, hat sich daher unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen in dieser Allgemeinheit als nicht richtig erwiesen. Der Ammoniakstickstoff wurde sogar

¹) Nährlösungen ohne Zusatz von Bodenaufschwemmung.

unter sonst gleichen Bedingungen (beim Fehlen der Karbonate) in viel geringerem Maße festgelegt als der Nitratstickstoff, nämlich im Verhältnis von 7,59% zu 12,33%. Dagegen hat, in Übereinstimmung mit den Befunden von Stutzer und Lemmermann, die Anwesenheit von kohlensaurem Kalk den Übergang des Ammoniakstickstoffs in unlösliche Form begünstigt. Bei meiner Versuchsanordnung tritt diese fördernde Wirkung des Kalkes noch viel stärker hervor als bei den Versuchen der genannten Autoren.

Bemerkenswert ist an diesen Ergebnissen ferner, daß, entgegen der allgemein verbreiteten Ansicht, die Schimmelpilze keine besonders starke Befähigung zur Ammoniakfestlegung aufwiesen, daß vielmehr gerade bei den am stärksten verschimmelten Kulturen der Serie 3 die geringste Eiweißbildung erfolgt war¹⁾. Im vorliegenden Falle waren an der Festlegung des Ammoniak- und Nitratstickstoffs vornehmlich Bakterien beteiligt und der Ammoniakstickstoff erfuhr nur bei Anwesenheit der Karbonate von Kalk und Magnesia eine starke Bevorzugung seitens dieser Bodenorganismen.

Versuch III.

Bei diesem Versuche sollte festgestellt werden, ob der Organismenbestand von Lehm- und Sandboden unter den bei Versuch II beschriebenen Bedingungen in verschiedener Weise auf die Festlegung der löslichen Stickstoffformen einwirkt. Es wurden daher je 100 ccm der obigen Nährlösung, welche 200 mg N in Form von Nitrat bzw. Ammoniak enthielten, mit je 5 ccm einer Aufschwemmung des humosen Lehmbodens von Streifen IV und des leichten Sandbodens von Streifen I des Versuchsfeldes versetzt. Nach 21 Tagen wurde wiederum der Eiweißgehalt der Kulturen nach Barnstein-Stutzer bestimmt.

Das Ergebnis des Versuches ist aus den folgenden Tabellen ersichtlich:

1. Lehm b o d e n.

Versuchs- anordnung	Einzel- ver- suche	Nach 21 Tagen waren in Form von Eiweiß-N vorhanden mg	Im Mittel wurden in Eiweiß-N übergeführt		Be- merkungen
			mg	Proz. d. urspr. vorhandenen N	
Ammoniak- nährlösung mit Ca CO ₃	1	39,84	39,84	19,92	Starkes Bakterien- wachstum
	2	39,84			
Ammoniak- nährlösung ohne Ca CO ₃	1	19,86	18,65	9,33	Sehr starkes Schimmel- pilzwachstum
	2	17,44			
Nitrat- nährlösung mit Ca CO ₃	1	25,44	24,38	12,19	Sehr starkes Bakterien- wachstum
	2	24,56			
	3	24,00			
	4	23,52			
Nitrat- nährlösung ohne Ca CO ₃	1	23,76	24,08	12,04	Sehr starkes Schimmel- pilzwachstum
	2	24,48			
	3	24,00			

¹⁾ Ähnliche Beobachtungen machte Bierema, (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd 23. 1909. p. 672).

2. Sandboden.

Ammoniak- nährlösung mit CaCO_3	1	36,48	33,60	16,80	Starkes Bakterien wachstum
	2	30,72			
Ammoniak- nährlösung ohne CaCO_3	1	26,16	29,28	14,64	Sehr starke Entwicklung von Mucor. Dicke Pilzhaut
	2	32,40			
Nitrat- nährlösung mit CaCO_3	1	27,84			Sehr starke Gasbildung. Kein Schim- melwachstum
	2	27,84	26,24	13,12	
	3	23,04			
Nitrat- nährlösung ohne CaCO_3	1	24,48			Sehr starke Schimmel- entwicklung
	2	29,28	27,36	13,68	
	3	28,32			

Der Kalk- (und Magnesia-) gehalt des Nährbodens hat demnach beim schweren Boden in Bestätigung der Resultate des Versuches II wiederum zu einer stärkeren Festlegung von Ammoniakstickstoff Veranlassung gegeben. Auf die Assimilation des Nitratsstickstoffes ist der Kalkzusatz wieder ohne Einfluß geblieben. Bei dem Sandboden sind dagegen keine erheblichen Differenzen hervorgetreten. Der Ammoniakstickstoff ist in der kalkhaltigen Nährlösung nur in sehr geringem Maße stärker unlöslich geworden als in der kalkfreien. Für die Assimilation des Nitratsstickstoffes war auch hier die Anwesenheit von kohlen saurem Kalk belanglos.

Versuch IV.

Bei den bisherigen Versuchen blieb die Frage offen, ob der Kalkgehalt der Erden an sich von Einfluß auf ihr Verhalten gegen Ammoniak- und Salpeterstickstoff ist. Es wäre möglich, daß unter dem Einfluß des Kalkes sich im Boden allmählich ein Organismenbestand einstellt, welcher zu einer erhöhten Festlegung von Ammoniakstickstoff befähigt ist. Um dies zu entscheiden, wurden gekalkte und ungekalkte Erden vom Versuchsgute Mocheln in Nährlösungen ohne Calciumkarbonatzusatz gebracht. Es wurde wiederum so verfahren, daß zu je 100 ccm Nährlösung, enthaltend 200 mg N, 5 ccm der betreffenden Bodenaufschwemmung zugesetzt wurden, und daß nach 21tägiger Aufbewahrung die Bestimmung des Eiweißgehaltes der Kulturen stattfand. In allen Kölbchen war starke Schimmelbildung erfolgt, charakteristische Unterschiede im Aussehen der Kulturen waren nicht vorhanden.

Das Versuchsergebnis ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

Erde von		Behandlung (Düngung pro ha)	Nach 21 Tagen waren in Form von Eiweiß-N vorhanden:	
Schlag	Parz.		Nitrat-Nähr- lösung mg	Ammoniak- Nährlösg. mg
VIII	b	Ungekalkt	21,60	23,52
	a	1908: 5000 kg Mergel pro ha	22,72	26,16
X	1, 4, 8, 10	Ungekalkt	21,12	22,56
	6, 12	1906: 4000 kg CaO im CaCO_3	25,44	24,48
	7, 13	1906: 4000 kg CaO im CaCO_3	24,72	25,84
	5, 11	1906: 4000 kg CaO im Ätzkalk	24,72	28,80
XIII	1, 4, 7	Ungekalkt	21,60	23,04
	2, 5, 8	1909: 2000 kg CaO im Ätzkalk	30,72	30,24
	3, 6, 9	1909: 2000 kg CaO im CaCO_3	25,92	26,40

Deutliche Unterschiede sind demnach hier nicht hervorgetreten. Immerhin scheint durch die Kalkung eine, sich unter den Bedingungen des Versuchs allerdings nur sehr schwach geltend machende Begünstigung derjenigen Bodenorganismen erfolgt zu sein, welche die Festlegung von Ammoniak- und Nitratstickstoff bewirken. Da bei Anwendung von 5 ccm Bodenaufschwemmung von den Erden selbst nur Spuren in die Nährlösungen gelangen, so könnte die hervorgetretene geringe Überlegenheit der gekalkten Böden nur durch eine Beeinflussung der physiologischen Leistungsfähigkeit der Bodenorganismen durch den Kalk erklärt werden.

Bei einigen weiteren Versuchen erhielten kleinere Proben der ungekalkten Erde aus Mocheln Zusätze von Ätzkalk und kohlensaurem Kalk, die 4000 kg CaO pro ha entsprachen. Die so behandelten Böden wurden sofort, sowie nach längerer (bis 40tägiger) Einwirkungsdauer der Kalkung auf ihr Verhalten in den beschriebenen Nährlösungen untersucht. Die Kalkzusätze hatten keine Erhöhung der Ammoniak- und Nitratfestlegung durch die Erde bewirkt.

Bei einem letzten in Flüssigkeiten ausgeführten Versuche sollte der Einfluß größerer Mengen von Bodenaufschwemmung auf den Verlauf der interessierenden Vorgänge beobachtet werden. Zur Anwendung kam Erde der dauernd ungedüngt bleibenden Parzelle 13 und der im Winter 1907 mit 5000 dz Kalkmergel pro ha gedüngten Parzelle 14. Aufschwemmungen dieser Erden wurden in Mengen von 5 ccm und von 50 ccm in je 100 ccm Nitrat- und Ammoniaknährlösung mit und ohne Kalkzusatz verbraucht. Nach 21 Tagen erfolgte wiederum die Bestimmung des Eiweißgehaltes der Kulturen in der beschriebenen Weise. Es ergab sich:

Erde von Parzelle	Angewandte Impfmenge ccm	Nach 21 Tagen waren in Form von Eiweiß-N vorhanden:			
		In Ammoniak-Nährlösung		In Nitrat-Nährlösung	
		mit Kalk mg N	ohne Kalk mg N	mit Kalk mg N	ohne Kalk mg N
13	5	a) 38,79	28,56	27,36	24,28
		b) 27,12	17,61	26,18	19,04
13	50	a) 46,65	20,94	24,04	—
		b) 45,22	21,84	25,94	25,70
14	5	a) 33,28	28,56	30,46	25,47
		b) 32,40	29,04	34,27	25,70
14	50	a) 35,76	21,36	—	25,70
		b) —	20,95	27,13	26,42

Selbst die sehr starke Kalkdüngung der Parzelle 14 machte sich demnach in den kalkfreien Nährlösungen nicht in typischer Weise bemerkbar, auch dann nicht, wenn größere Mengen Bodenaufschwemmung angewendet wurden. Dagegen hat auch bei diesem Versuch der Kalkgehalt des Nährbodens die Festlegung des Ammoniakstickstoffs deutlich begünstigt.

Das Gesamtergebnis der Versuche in Flüssigkeiten steht demnach im wesentlichen im Einklang mit den Befunden der eingangs erwähnten Autoren. Unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen ist eine beträchtliche Festlegung der ursprünglich in löslicher Form vorhandenen Stickstoffverbindungen, besonders des Ammoniakstickstoffs erfolgt. Ein höherer Gehalt der verwendeten Nährlösungen an kohlensaurem Kalk begünstigte diese Umwandlung des Ammoniakstickstoffs in Eiweißstickstoff erheblich, die Nitratumwandlung

jedoch nur wenig. Dagegen machte sich ein selbst durch sehr starke Kalkdüngung herbeigeführter höherer Kalkgehalt der verwendeten Erden nicht in der geschilderten Richtung bemerkbar, woraus geschlossen werden darf, daß die an der Ammoniakfestlegung in erster Linie beteiligten Mikroorganismen in den gekalkten Böden kein Übergewicht erlangten.

Die vielfach vertretene Ansicht, daß die Schimmelpilze in besonders starkem Maße zur Assimilation des Ammoniakstickstoffes befähigt sind, erhält in den Versuchsergebnissen keine Stütze, es war im Gegenteil der Anteil des festgelegten Ammoniakstickstoffes stets in den kalkfreien, bei der Verarbeitung stark verschimmelten Kulturen geringer als in den kalkhaltigen, üppiges Bakterienwachstum aufweisenden Flüssigkeiten.

2. Versuche im natürlichen Boden.

Zur Verwendung kam schwach lehmiger, humusarmer Sandboden von Schlag X des Versuchsgutes M o c h e l n , und zwar wiederum eine Probe (bezeichnet als Erde I) von einer Parzelle, welche früher gekalkt worden war und eine solche (bezeichnet mit Erde II) von einer ungekalkten Parzelle dieses Schlages. Die beiden Erden waren bei der Einlieferung Ende Mai 1910 staubtrocken. Die Wassergehalte betragen:

von Erde I: 1,28%
 „ „ II: 1,26%

Nachdem die gröberen Anteile durch ein 2 mm-Sieb entfernt worden waren, wurden zur genauen Ermittlung des Stickstoffgehalts beide Erden je zehnmal in Mengen von 30 g in Kjeldahl-Kolben eingewogen und nach J o d l - b a u r aufgeschlossen. Für Erde I ergab sich ein N.-gehalt von 0,0554%, für Erde II ein solcher von 0,0559%.

Je 100 g dieser Erden wurden in Erlenmeyer-Kölbchen von 400 ccm Inhalt eingewogen und in folgender Weise weiter behandelt:

- 1) Je 3 Kölbchen blieben ohne weiteren Zusatz.
- 2) „ 3 „ erhielten 0,9 g Kalziumkarbonat.
- 3) „ 3 „ „ 0,125 g Ammoniumsulfat, entsprechend 26,39 mg Stickstoff.
- 4) „ 3 „ „ 0,9 g Kalziumkarbonat + 0,125 g Ammoniumsulfat.
- 5) „ 3 „ „ 0,250 g Ammoniumsulfat, entsprechend 52,78 mg Stickstoff.
- 6) „ 3 „ „ 0,250 g Ammoniumsulfat + 0,9 g Kalziumkarbonat.

Sämtliche Kölbchen wurden mit 15 ccm Wasser versetzt, gewogen und 20 Tage lang im Brutschrank bei 22—23 ° C aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurde der Inhalt der Kölbchen mit schwach angesäuertem Wasser aufgenommen, über Porzellansaugplatten abgesaugt und gründlich ausgewaschen. Die Filtrate wurden auf 500 ccm aufgefüllt und in je 150 ccm nach den Angaben von D e n s c h ¹ Ammoniakstickstoff, organischer Stickstoff und Gesamtstickstoff bestimmt. Die Erdrückstände auf den Filtern wurden möglichst gleichmäßig auf je 3 Kjeldahl-Kolben verteilt und nach Zugabe eines Tropfens Quecksilber mit Schwefelsäure aufgeschlossen.

Die Ergebnisse der im allgemeinen sehr gut übereinstimmenden Einzelanalysen sind in der erwähnten ausführlicheren Publikation (Mitt. d. Kaiser. Wilh. Instituts) mitgeteilt worden. Hier seien nur die unter Verwendung von Mittelwerten sich ergebenden Stickstoffabrechnungen angeführt:

¹) Mitt. d. Kaiser Wilh. Instituts f. Landwirtsch. in Bromberg. Bd. 1. 1908. p. 207 u. 402.

Erde I.

Kolben No.	Behandlung	Beim Beginn des Versuchs			Nach Beendigung des Versuchs						Mit- hin N-Ver- lust mg
		in 100 g Erde	in Am- monium- sulfat	Ins- gesamt	Unlöslich. N mg	Gesamt mg	Ammon. mg	Organisch (+ Nitrit) mg	Nitrat (+ Nitrit) mg	Ins- gesamt	
4-6	Ohne Zusatz	55,4	—	55,4	47,12	2,86	0	1,11	1,75	49,98	5,42
10-12	0,9 g Kalziumkarbonat	55,4	—	55,4	48,76	3,70	0	0,79	2,91	52,46	2,94
31-33	0,125 g Ammoniumsulfat	55,4	26,39	81,79	50,31	24,38	17,77	1,53	5,08	74,69	7,10
34-36	0,250 g Ammoniumsulfat	55,4	52,78	108,18	51,60	51,88	45,91	2,22	3,75	103,48	4,70
19-21	0,125 g Ammoniumsulfat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,4	26,39	81,79	47,81	16,66	0	1,27	15,39	64,47	17,32
22-24	0,250 g Ammoniumsulfat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,4	52,78	108,18	52,33	43,42	34,90	1,67	6,85	95,75	12,43

Erde II.

1-3	Ohne Zusatz	55,9	—	55,9	48,87	2,96	0	1,11	1,85	51,83	4,07
7-9	0,9 g Kalziumkarbonat	55,9	—	55,9	45,95	4,44	0	0,79	3,65	50,39	5,51
25-27	0,125 g Ammoniumsulfat	55,9	26,39	82,29	49,81	26,66	22,90	1,85	1,91	76,47	5,82
28-30	0,250 g Ammoniumsulfat	55,9	52,78	108,68	49,63	53,39	49,98	2,06	1,35	103,02	5,66
13-15	0,125 g Ammoniumsulfat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,9	26,39	82,29	49,12	18,67	3,17	3,70	11,80	67,79	14,50
16-18	0,250 g Ammoniumsulfat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,9	52,78	108,68	51,12	45,75	39,67	1,74	4,34	96,87	11,81

Die Betrachtung der Zahlen führt zu folgenden Schlüssen:

1. Eine Stickstoffestlegung ist bei dieser Versuchsanordnung in keinem Falle erfolgt, dagegen sind bei sämtlichen Versuchen Stickstoffverluste eingetreten.

2. Die Zugabe von kohlensaurem Kalk hat die Nitrifikation des Ammoniakstickstoffs begünstigt, besonders stark bei der geringeren Ammoniakmenge, gleichzeitig aber auch die Verluste an Stickstoff beträchtlich erhöht.

3. Der kohlensaure Kalk hat demnach Stickstoffverluste verursacht, welche jedoch nicht oder doch nicht allein auf Ammoniakverdunstung zurückzuführen sind, da sie sonst bei der stärkeren Ammoniakgabe größer sein müßten, als bei der geringeren. Das Umgekehrte ist jedoch der Fall. Die Stickstoffverluste kommen offenbar beim Übergang des Ammoniakstickstoffs in Salpeterstickstoff zustande, bzw. sie betreffen den gebildeten Salpeter selbst, denn sie sind am größten bei der stärksten Nitratbildung, also bei der Versuchsanordnung 0,125 g Ammoniumsulfat + 0,9 g Kalziumkarbonat. Daß bei Störungen des Nitrifikationsvorganges, wie sie bei den in Erlenmeyer-Kölbchen befindlichen, ungenügend durchlüfteten Erden wohl möglich sind, Stickstoffverluste eintreten können, ist bekannt.

Versuch II.

Dieser Versuch wurde in genau der gleichen Anordnung wie Versuch I durchgeführt, nur kamen an Stelle von Ammoniumsulfat entsprechende Mengen von Natriumnitrat zur Verwendung. Es ergaben sich also die folgenden Reihen:

- 1) Je 3 Kölbchen blieben ohne weiteren Zusatz.
- 2) „ 3 „ erhielten 0,9 g Kalziumkarbonat.
- 3) „ 3 „ „ 0,160 g Natriumnitrat, entsprechend 25,58 mg Stickstoff
- 4) „ 3 „ „ 0,9 g Kalziumkarbonat + 0,160 g Natriumnitrat.
- 5) „ 3 „ „ 0,320 g Natriumnitrat, entsprechend 51,16 mg Stickstoff.
- 6) „ 3 „ „ 0,320 g Natriumnitrat + 0,9 g Kalziumkarbonat.

Auf Grund der ausgeführten Stickstoffbestimmungen gelangt man zu folgender Bilanz (Tab. p. 178):

Auch bei dieser Versuchsreihe ist demnach in keinem einzigen Falle eine Vermehrung des unlöslichen Stickstoffs, also eine Stickstoffestlegung eingetreten, dagegen sind wiederum in allen Kölbchen Stickstoffverluste zu konstatieren. Die Anwesenheit des kohlensauren Kalks war für den Verlauf der Stickstoffumsetzungen ganz belanglos. Die Stickstoffverluste entfallen ausschließlich auf den Nitratstickstoff und sind im vorliegenden Falle nur durch Denitrifikation zu erklären, welche durch den ungenügenden Luftzutritt begünstigt wurde.

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Während es in flüssigen Kulturen zu einer bemerkenswerten Eiweißbildung aus Ammoniak und Nitrat kam, war bei Versuchen in Erde selbst keine Stickstoffestlegung zu beobachten.

Zugaben von kohlensaurem Kalk begünstigten wohl in Lösungen die Festlegung des Ammoniakstickstoffs sehr erheblich, sie führten dagegen in einem normalen Wassergehalt aufweisenden Boden

Erde I.

Kolben No.	Behandlung	Beim Beginn des Versuchs			Nach Beendigung des Versuchs							Mit- hin N-Ver- lust mg
		in 100 g Erde	in Natrium- nitrat	Ins- gesamt	Unlöslich. Stickstoff mg	Löslicher Stickstoff				Ins- gesamt		
						Gesamt mg	Ammon. mg	Organisch mg	Nitrat mg			
4—6	Ohne Zusatz	55,4	—	55,4	48,20	3,21	0	1,76	1,45	51,41	3,99	
10—12	0,9 g Kalziumkarbonat	55,4	—	55,4	48,59	3,91	0	1,61	2,30	52,50	2,90	
34—36	0,16 g Natriumnitrat	55,4	25,58	80,98	52,20	19,60	0,75	1,71	17,14	71,80	9,18	
22—24	0,16 g Natriumnitrat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,4	25,58	80,98	48,52	23,70	0	2,04	21,66	72,22	8,76	
31—33	0,32 g Natriumnitrat	55,4	51,16	106,56	51,36	38,40	2,04	2,47	33,90	89,76	16,80	
19—21	0,32 g Natriumnitrat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,4	51,16	106,56	48,67	41,20	1,34	1,87	38,0	89,87	16,69	

Erde II.

1—3	Ohne Zusatz	55,9	—	55,9	51,48	3,48	0	2,303	1,18	54,96	0,94
7—9	0,9 g Kalziumkarbonat	55,9	—	55,9	48,63	5,09	0	1,763	3,33	53,72	2,18
28—30	0,16 g Natriumnitrat	55,9	25,58	91,48	50,11	23,70	1,232	2,785	19,68	73,81	7,67
16—18	0,16 g Natriumnitrat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,9	25,58	91,48	49,48	23,30	2,142	1,875	19,28	72,78	8,70
25—27	0,32 g Natriumnitrat	55,9	51,16	107,06	50,79	39,30	1,661	2,68	34,96	90,09	16,97
13—15	0,32 g Natriumnitrat + 0,9 g Kalziumkarbonat	55,9	51,16	107,06	47,75	41,00	2,678	2,732	35,59	88,75	18,31

zu keiner nachweisbaren Vermehrung des unlöslichen Stickstoffs.

Bei gleichzeitiger Anwesenheit von kohlensau-rem Kalk und Ammoniaksalzen im Boden können vielmehr erhebliche Stickstoffverluste eintreten, welche nicht oder nicht allein auf Ammoniakver-dunstung zurückzuführen sind, sondern anschei-nend ausschließlich dem aus dem Ammoniak gebil-deten Salpeter zur Last fallen.

Unter Verhältnissen, welche den bei der gewähl-ten Versuchsanordnung herrschenden ähnlich sind, wird man mit Stickstoffverlusten durch Denitri-fikation zu rechnen haben. Es ist jedoch zu berück-sichtigen, daß die Aufbewahrungsbedingungen der Erde in den verwendeten Erlenmeyer-Kolben durch-aus nicht als normal zu bezeichnen sind. Die Luft kann nur von der Oberfläche her zu der Erde gelan-gen und daher die Erdschicht weder durchdringen, noch sich in ihr erneuern. Einige Vorversuche, bei welchen der Luftzutritt zu den lagernden Erden auch von unten und von den Seiten her erfolgen konnte, haben zu anderen Resultaten geführt, über welche später berichtet werden wird.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

Betrachtungen zur biologischen Untersuchung von Brauwasser.¹⁾

Von H. Will.

Verf. bespricht kritisch die verschiedenen Untersuchungsverfahren, welche zur Begutachtung eines Wassers für Brauereizwecke in biologischer Hinsicht angewendet werden, und sucht deren Ergebnisse auf ihren richtigen Wert für die Begutachtung zurückzuführen. Für die Beurteilung eines Wassers für Brauereizwecke kommt nicht die Quantität der überhaupt in dem Wasser vorhandenen Organismen in Betracht, welche sich auf irgendwelchen Nähr-böden zu entwickeln vermögen, sondern die Qualität dieser Keimzahlenwerte an sich, ohne Berücksichtigung der vorhandenen Organismenarten oder wenigstens der verschiedenen Gruppen von Organismen und hauptsächlich ihrer Bedeutung als Bierschädlinge, sowie der Bedingungen, unter welchen die Bierschädlinge zur Entwicklung kommen, sagen sehr wenig für die bio-logische Beurteilung einer Wasserprobe für Brauereizwecke aus. Die durch Plattenkulturen gewonnenen Zahlenwerte können auch keinen Anhaltspunkt für die Schnelligkeit geben, mit welcher die vorhandenen Organismen Würze und Bier zerstören. Es besteht keine feste Beziehung zwischen der in einer Wasserprobe überhaupt enthaltenen Anzahl von Keimen und deren Zerstö-rungsvermögen gegenüber Würze und Bier. Das Bestreben muß dahin ge-richtet sein, Mittel und Wege ausfindig zu machen, vor allem die in einem Wasser vorhandenen bierschädlichen Organismen nach Art und Zahl nach-zuweisen. Ein Weg hierzu ist in der Anwendung von Spezial-Nährflüssig-keiten und in der Einhaltung besonderer Züchtungsbedingungen gegeben,

¹⁾ Zeitschr. f. d. gesamte Brauw. Bd. 34. 1911. p. 125—129; 137—142; 149—152; 163—168.

durch welche die Entwicklung der einzelnen Gruppen von Bierschädlingen und damit die Anhäufung begünstigt wird. Außer wilden Hefen kommen hauptsächlich Milchsäurebakterien in Betracht.

Ebensowenig wie die Zahl der in einem Wasser vorhandenen Organismen eine sichere Grundlage für die Beurteilung bietet, ebensowenig vermag dies die Energie, mit welcher sich jene Organismen in Würze und sterilem Bier entwickeln. Eine hohe Entwicklungsenergie fällt nicht immer mit hoher Widerstandsfähigkeit gegen gärende Würze zusammen. Die Widerstandsfähigkeit von Wasserorganismen gegen die Gärung schließt in sich, daß sie bei reichlicher Vermehrung während jener auch den Geschmack des Bieres beeinflussen werden, also in dieser Hinsicht als Bierschädlinge zu betrachten sind.

Bei Verwendung von Bier zur Wasseruntersuchung muß nicht nur die chemische Zusammensetzung, sondern auch der biologische Bestand des Bieres berücksichtigt werden.

Verf. hat während mehrerer Jahre sämtliche Wasserproben vergleichend nach dem Verfahren von Hansen und demjenigen von Wichmann untersucht. Die Gärprobe nach dem früheren Verfahren vervollständigte die Untersuchung. Zweck dieser war, einen Überblick erstens darüber zu gewinnen, inwieweit die bei der Feststellung des Zerstörungsvermögens nach Wichmann erhaltenen Zahlen mit dem durch das Verfahren von Hansen für die Entwicklungsenergie und für die Entwicklungskraft erhaltenen übereinstimmen, und ferner einen Überblick über die Bedeutung der Entwicklungsenergie und des Zerstörungsvermögens gegenüber der Widerstandsfähigkeit gegen gärende Hefe zu gewinnen.

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß die für das Zerstörungsvermögen bei dem Verfahren von Wichmann und die für die Entwicklungsenergie und Entwicklungskraft bei dem Verfahren von Hansen erhaltenen Zahlen nicht in allen Fällen gleichwertig sind und unter Umständen völlig verschiedene Bilder von dem Organismenbestand einer Wasserprobe geben. Der Grund hierfür liegt darin, daß bei dem Verfahren von Wichmann infolge der verschieden großen Wasserzusätze die verschieden große Menge der Wasserorganismen auf die gleiche, aber in verschiedenem Grade verdünnte und damit weniger widerstandsfähige Würze einwirkt. Die beste Übereinstimmung besteht im allgemeinen bei sehr starker und bei sehr geringer Verunreinigung des Wassers. Das Zerstörungsvermögen gibt über Verhältnisse Auskunft, die zunächst nicht im Vordergrund des Interesses stehen. Dem Verhalten der Wasserorganismen gegenüber verdünnter Würze und gegenüber verdünntem Bier ist nicht so großes Gewicht beizulegen wie dem Verhalten gegenüber der Würze von gewöhnlicher Konzentration.

Eine sehr wichtige Frage für die Beurteilung ist die Widerstandsfähigkeit der in einem Wasser vorhandenen Organismen gegenüber gärender Hefe.

Ein Brauwasser, welches stark mit Bakterien verunreinigt ist, oder Bakterien mit hoher Entwicklungsenergie enthält, darf aus diesem Grunde allein nicht für unbrauchbar erklärt werden. Dem Erfolg der Gärprobe ist in diesem Falle für die Beurteilung ein ausschlaggebendes Gewicht beizulegen.

Die Gärprobe wird jetzt in folgender Weise ausgeführt. Zu je 50 ccm gehopfter Würze von 12,6 Proz. B., welche sich in zwei Erlenmeyerkölbchen befinden, werden, nachdem sie einen Zusatz von 0,5 ccm dickbreiiger oder einer entsprechenden Menge nicht zu dünnflüssiger Reinhefe Stamm 2 erhalten haben, 5 ccm des zu untersuchenden Wassers zugesetzt. Das eine Kölbchen ist mit einem lockeren Wattepfropfen verschlossen, auf das zweite

ein Gärverschluß aufgesetzt. Ferner erhalten je 50 ccm der gleichen gehopften Würze, welche auf 11,5 Proz. B. verdünnt ist, außer der gleichen Menge Hefe wie in der ersten Versuchsreihe einen Zusatz von 5 Tropfen Wasser. Der Verschluß der beiden Erlenmeyer-Kölbchen ist der gleiche, wie bei der ersten Versuchsreihe. Die Gärproben werden bei 25° C aufgestellt und in der Regel nach 7 Tagen mikroskopiert.

Die vergleichenden Untersuchungen zwischen dem alten und dem neuen Verfahren bei der Gärprobe haben ergeben, daß zwar eine bedeutende Verschiebung zuungunsten der widerstandsfähigen Bakterien stattfindet, daß aber nicht in allen Fällen durch die größere Hefengabe die vorhandenen Bakterien unterdrückt werden, wenn solche bei dem alten Verfahren der Gärprobe zur Entwicklung kommen. Durch die größeren zur Prüfung verwendeten Wassermengen bei dem neuen Verfahren kommen trotz der größeren Hefengabe noch in einzelnen Fällen widerstandsfähigere Bakterien zur Entwicklung, welche selbst bei der größeren Wassermenge und der geringeren Hefengabe des alten Verfahrens nicht mehr in die Erscheinung treten. Diese widerstandsfähigeren Bakterien dürften aber für die Begutachtung eines Wassers für bestimmte Zwecke der Brauerei eine ganz wesentliche Bedeutung haben.

A u t o r e f e r a t.

Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.

Vergleichende Prüfung bakteriologischer und biochemischer Methoden zur Beurteilung der Milch.

Von O. Schroeter.

Die auf Veranlassung des Ref. ausgeführten Untersuchungen werden in einer voraussichtlich im Frühjahr 1912 erscheinenden Leipziger Dissertation zu eingehender Erörterung gelangen. Hier soll vorläufig über die Hauptergebnisse kurz berichtet werden, besonders auch mit Rücksicht auf die ungefähr zur gleichen Zeit von Barthel in Stockholm angestellten Prüfungen ähnlicher Art ¹⁾).

Bearbeitet wurden im ganzen 122 Milchproben, und zwar: 89 Proben gewöhnliche Marktmilch, 28 Proben „Vorzugsmilch“ in Originalflaschen, 3 im Rassestalle des Instituts möglichst aseptisch ermolzene Proben, 1 Magermilch und 1 absichtlich mit Mastitis-Milch vermischte Vorzugsmilch. Es wurde festgestellt:

1. Der Gesamt-Keimgehalt auf Fleischextrakt-, Molken-, Heyden- und Ragit-Agar nach 3 Tagen bei 38° C,
2. die Zahl der Milchsäurebakterien (nach Beijerinck) auf der Kreide-Molken-Agar-Platte,
3. die Zahl der Coli-Bakterien (nach Harrison und Vanderleek) in Aesculin-Boullion,
4. Menge und Beschaffenheit des Sediments in der Leukozytenprobe (nach Trommsdorf),
5. das mikroskopische Bild des Schleuderrückstandes,
6. der Ausfall der Katalaseprobe in 15 ccm Milch + 5 ccm 1-proz. Wasserstoffsuperoxyd bei 20° C in dem an anderer Stelle ²⁾ beschriebenen Apparate,

¹⁾ Barthel, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 21. 1911. p. 513—534; (Ref. erscheint in dieser Zeitschr.)

²⁾ Löhnis, Landwirtschaftlich-bakteriologisches Praktikum. 1911. p. 77.

7. der Ausfall der Reduktionsprobe nach Orla Jensen,
8. der Ausfall der Milchgärprobe bei 38° C,
9. der Aciditätsgrad nach Soxhlet-Henkel (100 cem),
10. das Ergebnis der Alkohol- und der Kochprobe.

Das gesammelte Beobachtungsmaterial ermöglicht einerseits ein Urteil über Wert und Zuverlässigkeit der verschiedenen Methoden, andererseits gewährt es ein Bild von der Beschaffenheit der gegenwärtig in Leipzig im Handel befindlichen Milch.

Über die Methoden selbst und deren Zuverlässigkeit mag zunächst folgendes hervorgehoben sein.

Von den zur Ermittlung des Gesamt-Keimgehalts benutzten Gußkulturen lieferten teils die mit Fleischextrakt-, teils die mit Molken-Agar bereiteten die höheren Zahlen. Auch Ragit-Agar bewährte sich recht gut. Dagegen ergaben sich für das nach den Angaben von Hesse und Niedner hergestellte Heyden-Agar sowohl nach 3 wie nach 10—14 Tagen stets die niedrigsten Befunde; es wurde deshalb nur eine Zeitlang zu Vergleichszwecken mit herangezogen. Von der Verwendung von Gelatine wurde abgesehen, da diese wegen der hierbei notwendigen langen Beobachtungszeit (10 Tage) für Massenuntersuchungen kaum in Betracht kommen kann.

Bei der Bestimmung des auf die Milchsäurebakterien entfallenden Anteiles macht sich nicht selten der Umstand nachteilig geltend, daß die rasche und genaue Ermittlung der Gesamt-Keimzahl auf der Kreide-Agar-Platte durch im Agar liegende, von Tiefenkolonien kaum zu unterscheidende Kreidestückchen mitunter auf Schwierigkeiten stößt. Dem wurde dadurch begegnet, daß man nach erfolgtem Zählen der säurebildenden Kolonien das Agar mit ein paar Kubikzentimeter 5-proz. Salzsäure übergießt. Innerhalb einiger Stunden ist sämtliche Kreide gelöst, die Säure wird jetzt vorsichtig (da das so behandelte Agar sich leichter vom Glase löst) abgegossen und die Gesamt-Keimzahl kann nun unschwer festgestellt werden.

Die Coli-Bakterien wurden unter Benutzung der Verdünnungsmethode in der von Harrison und Vanderleck für diesen Zweck in Vorschlag gebrachten Aesculin-Bouillon gezählt. Das von diesen Autoren ebenfalls empfohlene Agar bewährte sich wenig; die als Charakteristikum der Coli-Kolonien anzusehende Schwärzung breitete sich so stark im Agar aus, daß kaum zu entscheiden war, wieviel und welche Kolonien für die Farbänderung verantwortlich zu machen seien. Von Klotz und Rankin¹⁾ ist der von Harrison und Vanderleck angegebenen Methode kürzlich entgegen gehalten worden, daß bei entsprechenden Nachprüfungen nur $\frac{1}{3}$ der (vom Menschen stammenden) Coli-Kulturen Schwarzfärbung ergaben. Dem muß andererseits hinzugefügt werden, daß weit mehr Organismen die Aesculin-Bouillon schwärzen können, als nach den Mitteilungen von Harrison und Vanderleck zu erwarten war. Nicht nur *Bact. coli* (aus Erde und Dünger) zeigten dieses Verhalten, sondern auch je ein Stamm von *Microc. roseus*, *Bact. pneumoniae*, *Streptococcus lactis* und *Streptococcus lactis innocuus* (sämtlich innerhalb eines Tages). Einige neuerdings von Dr. Dons im hiesigen Laboratorium vorgenommene Prüfungen erweiterten diese Reihe noch: *Bac. subtilis*, *prodigiosus* (ein Stamm) und *Tyrophrix tenuis* reagierten nach 1 Tag, *Bac. butyricus*, *mycoides* und

¹⁾ Klotz and Rankin, Journ. of Infect. Diseases. Vol. 7. 1910. p. 67; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48. p. 212.

lactis niger nach 2 Tagen, *Bact. fluorescens* (ein Stamm) nach 3—4 Tagen; andere Stämme von *B. prodigiosum* und *fluorescens* zeigten allerdings ein negatives Verhalten. Es dürfte also sehr vom Zufall abhängen, ob die Methode im einzelnen Falle richtige, zu hohe oder zu niedrige Werte liefert; eine allzu große Bedeutung kann den mit ihrer Hilfe ermittelten Zahlen nicht beigemessen werden. — Die ebenfalls von *Vanderleck* angegebene Neutralrot-Gärprobe bewährte sich übrigens noch weniger, so daß von ihrer Verwendung nach einer Reihe von Vorversuchen Abstand genommen werden mußte.

Die Leukozytenprobe nach *Trommsdorff* wurde stets durch die genaue Prüfung des Sedimentes im mikroskopischen Bilde ergänzt, da ja nur so zuverlässige Resultate zu erlangen sind. Zur Färbung wurde stets stark verdünntes Methylenblau, wie es auch zur Reduktionsprobe diente, in Anwendung gebracht; zu intensive Färbung muß vermieden werden, da sonst leicht in den dunkel tingierten Leukozyten-Ansammlungen etwa vorhandene vereinzelte Streptokokken dem Auge entgehen können. Das Durchmustern des mikroskopischen Bildes ermöglicht überdies in jedem Falle die passendsten Aussaatsstärken (je 3 Verdünnungen) für die Gußkulturen mit Sicherheit zu treffen.

Die Katalaseprobe wurde anfangs nach dem Verfahren von *Burri* und *Staub* ausgeführt (10 ccm Milch + 3 ccm 1-proz. Wasserstoffsuperoxyd bei 38° C in der Röhre mit gleitendem Agarpfropf). Leider hielten die Agarzapfen nicht immer genügend dicht, so daß Gasverluste zustande kamen. Es wurden deshalb im Herbst 1909 die schon erwähnten Apparate konstruiert; Vergleiche mit den weiterhin von *Henkel*, *Lobck*, *Ottiker* u. a. in Vorschlag gebrachten Instrumenten fielen nicht derart aus, daß daraufhin einem dieser Apparate hätte der Vorzug gegeben werden müssen ¹⁾. Bei vergleichenden Untersuchungen stellte es sich ferner heraus, daß bei 25° C (d. h. bei der von *König* bei seinen Katalase-Prüfungen innegehaltenen Temperatur) etwa $\frac{1}{5}$ mehr Sauerstoff entwickelt wird, als bei 38° C. Wurden die Apparate, was sich durch entsprechende Form der Einsatzgefäße leicht ermöglichen läßt, mit verschiedenen Milch-Wasserstoffsuperoxyd-Mengen (15 + 5 bzw. 10 + 3 ccm) beschickt und bei den angegebenen Temperaturen gehalten, so entwickelten 15 ccm Milch + 5 ccm Wasserstoffsuperoxyd bei 25° C durchschnittlich 1,85 mal so viel Sauerstoff als 10 ccm Milch + 3 ccm Wasserstoffsuperoxyd bei 38° C. In der Haupttabelle (am Ende des Referates) sind die entsprechend korrigierten, ursprünglich nach *Burri* und *Staub* ermittelten Werte durch einen * kenntlich gemacht. Sie sind naturgemäß nur annähernd richtig; die Grenzwerte für jenen Faktor stellten sich bei den vergleichenden Prüfungen auf 1,56 und 2,10. Bei 15—18° C wurden etwas niedrigere Katalase-Zahlen erhalten als bei 25°; dagegen stimmten die Resultate bei 25 und bei 20—22° vollständig überein. Auf das Warmbad konnte also verzichtet und das Verfahren hierdurch weiter vereinfacht werden, ohne daß die Genauigkeit und Vergleichbarkeit der Zahlen eine Beeinträchtigung erfahren hätte. Auf das von manchen Autoren für sehr wichtig gehaltene Schütteln der Milch-Wasserstoffsuperoxyd-Mischung wurde verzichtet, denn einerseits handelt es sich doch in jedem Falle lediglich um die Erlangung von Vergleichswerten, andererseits gestatten die weiterhin zu besprechenden Resultate nicht, die Katalaseprobe wesentlich höher zu be-

¹⁾ Die neueste, von *Ottiker* auf der Hygiene-Ausstellung in Dresden vorgeführte Konstruktion stimmt nahezu mit der unsrigen überein.

werten als die Leukozytenprobe. Hier wie dort können nur relativ große Differenzen als Basis zu einigermaßen sicheren Schlußfolgerungen dienen. Wegen der geringen Haltbarkeit des 1-proz. Wasserstoffsperoxyds wurde vor jedem Versuche die Stärke der Lösung durch Titration mit $\frac{1}{10}$ Normal-Kaliumpermanganat kontrolliert.

Die Reduktionsprobe wurde nach J e n s e n s Vorschlag mit 40 ccm Milch + 1 ccm Methylenblau (5 ccm konz. alkoholisches Methylenblau + 195 ccm Wasser) bei 38—40° C durchgeführt; die von Barthel angegebene Modifikation empfahl sich weniger, da hier die Entfärbung (bei 45—50°) allzu lange Zeit, z. B. bei 5—7½ Millionen Keime enthaltenden Milchproben noch ca. 9 Stunden in Anspruch nahm. Bei den mit 22 Proben angestellten vergleichenden Versuchen konnte übrigens Barthels Angabe, daß nur das Chlorzinkdoppelsalz nicht das Chlorhydrat des Tetramethyltionins Verwendung finden dürfe, nicht bestätigt werden. Die von (Grübler u. Co. bezogenen) Präparate lieferten vollständig übereinstimmende Resultate; ebenso blieb das (neuerdings auch von Barthel selbst als entbehrlich erkannte) Überschichten der Milch mit Paraffinum liquidum fast ohne jeden Einfluß.

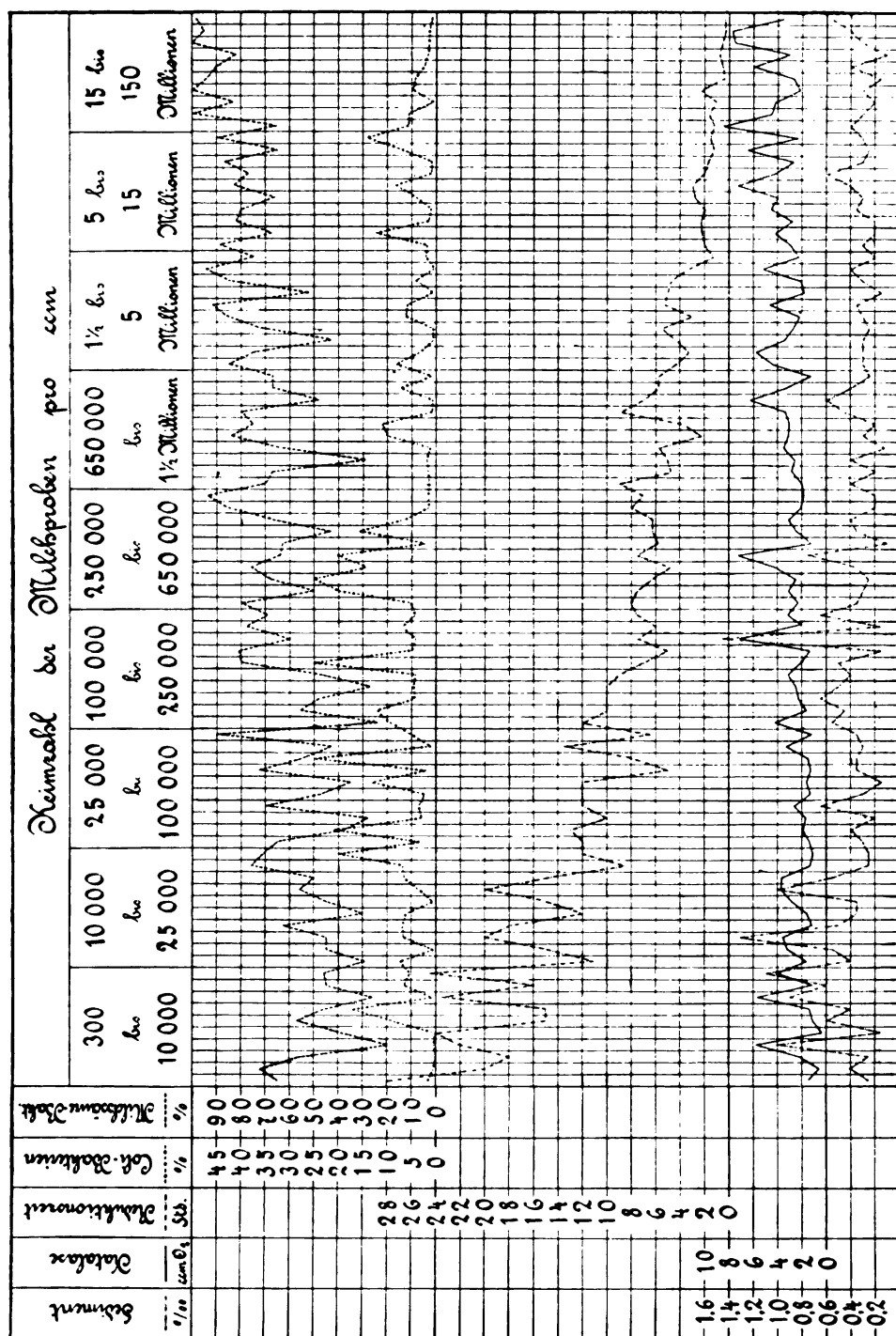
Die Ausführung der Milch-Gärprobe geschah in der allgemein üblichen Weise im Wasserbade bei 38° C. Das Ergebnis wurde an der Hand der Gärproben-Tafel von Peter bestimmt. Die Gärprobe mit der Reduktionsprobe nach O. J e n s e n s Vorschlag in kombinierter Form als „Gär-Reduktase-Probe“ in Anwendung zu bringen, erschien nicht angezeigt. Der Methylenblauzusatz kann das Gärproben-Ergebnis sowohl verschlechtern wie verbessern. In 52 von 122 Fällen ergaben sich Differenzen. Die durch die Kombination erzielte Vereinfachung dürfte die Unsicherheiten, die hierbei in Kauf genommen werden müssen, wohl nicht aufwiegen.

Der Aciditätsgrad wurde (nach Morres) durch Titration von je 20 ccm Milch mit $\frac{1}{10}$ Normal-Natronlauge ermittelt und durch Addierung der beiden Parallelzahlen auf Soxhlet-Henkel-Grade ($\frac{1}{4}$ ccm Normal-Lauge pro 100 ccm Milch) umgerechnet.

Die Alkoholprobe (5 ccm Milch + 5 ccm Alkohol) wurde sowohl mit 68- wie mit 44-proz. Alkohol ausgeführt. Dieser gibt nach Morres dieselben Resultate wie die Kochprobe. Die von demselben Autor vorgeschlagene Alizarin-Alkoholprobe lieferte bei den orientierenden Versuchen nur in solcher Milch deutliche Verfärbungen, die in der Alkoholprobe schon gerann. Von einer weiteren Verwendung wurde daraufhin Abstand genommen.

Die Kochprobe wurde mit ca. 10 ccm Milch im Reagensglase ausgeführt.

Die mit Hilfe dieser Methoden erlangten Resultate sind in der am Schlusse beigegebenen Haupttabelle verzeichnet; nur die in allen Fällen negativen Ergebnisse der Alkohol- und der Kochprobe wurden fortgelassen. Von 90 Milchproben ist außerdem der Ausfall der Leukozyten-, Katalase- und Reduktionsprobe sowie die Zahl der Koli- und der Milchsäurebakterien auf der beigegebenen Kurventafel graphisch dargestellt. 32 Proben konnten hierbei nicht berücksichtigt werden, weil die für sie ermittelten Werte entweder nicht vollständig festgestellt oder nicht zweifelsfrei waren. Sie sind in der Tabelle durch Buchstaben, die den fortlaufenden Nummern beigelegt wurden, kenntlich gemacht.



Ergebnisse bakteriologischer und biologischer Prüfungen von 90 Milchproben.

Die Gesamt-Keimzahlen bewegten sich für die 89 Markt-milchproben zwischen 27 500 und 142 000 000; im Durchschnitt beliefen sie sich auf 7 153 000 pro ccm. Die niedrigsten Werte wurden von November bis März, die höchsten im Juli und August sowie im Oktober (in der Zeit der Rübenblattfütterung) gefunden. Die im Vergleich zu anderen Städten hohen Keimzahlen der Leipziger Handelsmilch sind vornehmlich darauf zurückzu-

führen, daß hier der Milchverkauf sehr zersplittert ist und die hauptsächlich in Frage kommenden Grünwarenläden usw. oft jeglicher Kühlvorrichtungen entbehren. Weniger als 250 000 Keime wiesen nur 19 Proben (= 21,3%) auf; $\frac{2}{3}$ von ihnen waren im Winter entnommen. Bis zu 1 Million Keime wurden in 46,1%, mehr als 10 Millionen in 23,6% aller Proben gefunden.

Während sich nur bei 1 von allen Marktmilchproben weniger als 50 000 Keime pro ccm zeigten, war dies bei 89,3% aller Vorzugsmilchproben der Fall. 10,7% überschritten dagegen diesen für die Vorzugsmilch in Leipzig behördlich festgesetzten Grenzwert. Die für die 28 geprüften Vorzugsmilchproben ermittelten Zahlen schwankten zwischen 1955 und 86500; der Durchschnittswert stellte sich auf 20 300. 78,6% ergaben weniger als 25 000 Keime pro ccm.

Der auf die Milchsäurebakterien entfallende Anteil ging bis auf 20% herab und stieg bis auf 100%. Im Durchschnitt enthielten die untersuchten Milchproben folgende prozentische Anteile:

Gesamtkeimgehalt pro ccm	weniger als 100 000	100 000 bis 1 ½ Millionen	mehr als 1 ½ Millionen
Milchsäurebakterien %	52	63	78

Im einzelnen ergeben sich, wie besonders die betreffende Kurve deutlich erkennen läßt, sehr starke Schwankungen. In den 10 keimreichsten Vorzugsmilchproben (mit 17 000—86 500 Keimen) entfielen auf die Milchsäurebakterien 62,3, in den 10 keimärmsten Marktmilchproben (mit 27 500—187 800 Keimen) aber nur 39,2%.

Die Coli-Bakterien lassen sich, wie oben nachgewiesen wurde, mit der Aesculin-Methode nicht genau bestimmen. Läßt man aber auch die ganz hohen Zahlen sowohl aus diesem Grunde wie mit Rücksicht auf die der Verdünnungsmethode anhaftenden Fehler außer Betracht, so darf doch immerhin aus diesen Befunden geschlossen werden, daß eine Maximalzahl von nur 1%, wie sie Vanderleck fordert, entschieden zu niedrig erscheint. Das Aussehen der Gußkulturen spricht ebenfalls nicht selten gegen diese Annahme. Daß in den keimreichsten Proben relativ am wenigsten Coli-Bakterien nachgewiesen werden konnten, steht offenbar im Zusammenhange mit dem gerade hier z. T. sehr ausgesprochenen Vorherrschen der Milchsäure-Streptokokken.

Die Leukozyten-Probe lieferte, abgesehen von der Magermilch, bei der reichlich Kasein mit ausfiel, 0,1—1,6‰ Sediment. Besonders in der keimärmeren Milch wurden nicht selten recht hohe Werte erhalten, die bei einseitiger Berücksichtigung der Schleuder-Probe leicht zu unrichtigen Schlüssen hätten Veranlassung geben können. Mit zunehmendem Alter der Milch macht sich der Zerfall der Leukozyten deutlich geltend; bei den keimreichsten Proben zeigt die Sediment-Kurve unverkennbar eine sinkende Tendenz.

Mit Hilfe der mikroskopischen Prüfung des Sediments konnte festgestellt werden, daß abgesehen von zwei zweifelhaften Fällen (Nr. 18 und 29) das Ausstrichpräparat auch bei den viel Sediment liefernden Vorzugsmilch-Proben keine Mastitis-Streptokokken oder sonstige bedenkliche Erscheinungen erkennen ließ. Dagegen erwiesen sich einige sedimentarme Marktmilchproben (Nr. 41, 64, 73 und 75) z. T. reich an den mehr oder minder langen gewundenen Ketten mit in der Längsrichtung abgeflachten Gliedern. Probe Nr. 58 war aus Vorzugsmilch und Mastitismilch in einem solchen Mischungsverhältnis hergestellt, wie es sich ergeben würde, wenn in

einem Bestande von 20 Kühen 1 Tier auf 1 Strich Streptokokken-haltige Milch lieferte. Das Ergebnis der Leukozytenprobe in Verbindung mit der Betrachtung des Ausstrichpräparates war auch hier ganz prägnant. Selbst bei einer Verdünnung von 1:4000 konnten im mikroskopischen Bilde noch ziemlich viel Leukozyten und typische Ketten-Kokken aufgefunden werden. Sicher nachweisbar waren Mastitis-Streptokokken in 11 von 98 Marktmilch-dagegen in keiner von 28 Vorzugsmilch-Proben.

Dem Ausfall der Katalaseprobe kann (in Übereinstimmung mit Barthel) kein allzu großer Wert beigemessen werden. Im großen und ganzen stimmen, wie die Katalase- und die Sediment-Kurve erkennen lassen, die Ergebnisse mit denen der (weit einfacheren) Leukozytenprobe überein. Jene Streptokokken-haltigen Marktmilchproben, die nicht an der Menge des Sedimentes erkannt werden konnten, zeigten auch in der Katalaseprobe kein abnormes Verhalten. Ein Grenzwert, von dem an die Milchproben als verdächtig anzusehen wären, läßt sich auf Grund des in der Haupttabelle niedergelegten Materiales nicht festsetzen. Daß der Keimgehalt ebenfalls, aber in weit geringerem Grade als die anderen beim Zentrifugieren ausfallenden Bestandteile der Milch auf das Ergebnis einwirkt, ist ebenfalls aus dem Verlaufe der beiden Kurven ohne weiteres abzuleiten. Im einzelnen ergeben sich mitunter sehr auffallende Resultate, z. B.:

Probe	Keimzahl	Sediment	Katalase
Nr. 79	11 775 000	0,25	6,5
„ 80	12 000 000	0,3	2,25

Auf die Beziehungen zwischen Katalase- und Gärprobe wird unten zurück-zukommen sein.

Auch die Reduktionsprobe lieferte sehr schwankende Ergebnisse, obwohl allerdings die Verminderung der Reduktionszeit mit zunehmendem Keimgehalt besonders an der Kurve unverkennbar hervortritt. Im einzelnen gehören aber Resultate wie die folgenden nicht zu den Seltenheiten:

Probe	Keimzahl	Reduktions-Zeit
Nr. 19	17 250	8,5 Stunden
„ 57	1 082 000	> 9,0 „
„ 55	935 000	2,25 „
„ 84	21 000 000	2,3 „

Es muß in dieser Hinsicht auch auf die von anderen mitgeteilten Beobachtungen ¹⁾, namentlich auch auf die Befunde Barthels hingewiesen werden. Zwar sieht gerade dieser Autor in der Länge der Reduktionszeit einen sehr wertvollen Anhalt für den Keimreichtum einer Milchprobe. Indessen entsprechen ebenfalls nicht weniger als 16 der von ihm untersuchten Proben nicht dem von ihm aufgestellten Schema (< 4 Millionen Keime > 3 Stunden > 10 Millionen < 1 Stunde Reduktionszeit), und es finden sich z. B. Abweichungen folgender Art:

Keimzahl	Reduktionszeit	Keimzahl	Reduktionszeit
930 000	40 Min.	9 215 000	> 3 Std.
2 885 000	30 „	9 625 000	> 3 „
3 240 000	15 „	10 816 000	> 3 „
3 300 000	30 „	22 810 000	1 Std. 40 Min.

Orla Jensen hat folgende 4 Klassen gebildet:

Reduktionszeit (Std.)	> 7	$7-2$	$2-\frac{1}{4}$	$< \frac{1}{4}$
Keimgehalt	$< 100\ 000$	$100\ 000-3\ 000\ 000$	$3-20$ Millionen	> 20 Millionen

¹⁾ Vgl. besonders Burri und Kürsteiner, Landw. Jahrb. der Schweiz. 1910. p. 437—466, spez. 460ff.

Lfd. No.	Keimzahl pro cem		Mikroskopisches Bild			Sediment		Katalase cem O ₂	Reduktionszeit Std.	Milchsäurebakt. %	Coli-Bakt. %	Gärprobe	Acidität
						°/oo	Schmutz						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
1	A	365	oo Schl.	x	III	0,25	—	1,45	28	65	1,7	fl ₁	7,00
2	A	840	oo	xx	I	0,4	—	0,55	20	72	0,6	fl ₁	7,20
3	V	1 955	ooo	x	I	0,25	—	2,2*	ca. 18	56	0,0	gl ₃	7,10
4	V	2 450	ooo	xx	I	1,0	xx	5,75	22	20	0,4	fl ₁	7,60
5	A	3 200	oo	x	I	0,15	x	0,35*	>24	39	0,3	fl ₁	7,06
6	V	5 300	ooo Schl.	xx	II	0,6	x	1,1	15	57	8,8	gl ₁	7,20
6a	V	5 400	ooo	xx	I	0,55	x	1,6	ca. 15	65	23,8	gl ₂	7,60
7	V	6 000	ooo	xx	I	0,4	xx	1,35	15	46	17,2	gl ₂	7,70
8	V	7 675	ooo Schl.	xx	I	0,9	xx	5,65	23,5	26	0,7	fl ₂	6,20
9	V	8 175	ooo	xx	II	0,6	xx	1,15	ca. 16	45	6,5	gl ₂	7,60
9a	V	8 800	ooo	xx	II	0,4	xx	1,3	12	60	25,0	z ₂	7,10
10	V	9 180	ooo Schl.	xx	I	1,1	xx	4,05	24,5	46	5,4	fl ₃	6,80
10a	V	9 850	ooo Schl.	x	I	0,35	—	5,85	5,5	56	4,8	k ₁ —z ₂	6,20
11	V	10 675	ooo	xx	II	0,4	xx	1,6	11	29	7,4	gl ₃	7,30
11a	V	11 500	ooo Schl.	x	I	2,5	x	4,1	9,0	57	4,5	gl ₂ —z ₂	6,20
21	V	13 600	ooo	xx	I	0,55	x	3,2	ca. 15	45	0,6	fl ₃	7,20
13	V	14 060	ooo Schl.	xx	I	1,3	xx	3,55	ca. 20	45	6,7	fl ₁	7,10
14	V	14 330	oo	xx	II	0,5	xx	1,15	ca. 18	63	6,9	fl ₁	7,80
15	V	15 625	ooo	xx	II	0,35	xx	1,6	12	30	6,3	fl ₃	6,90
16	V	16 270	ooo	xx	II	0,35	x	2,8	ca. 15	45	0,6	z ₂	6,20
17	V	16 300	ooo Schl.	x	I	1,0	—	3,7	ca. 20	56	3,6	gl ₁ —z ₂	7,20
18	V	17 000	ooo w. Str.?	x	I	0,55	x	3,65	ca. 15	50	6,5	fl ₁	6,60
19	V	17 250	ooo	xxx	II	0,25	xx	1,3	8,5	76	6,9	gl ₁	7,80
20	V	18 250	ooo	xx	II	0,25	xx	1,1	12	71	20,0	gl ₂	7,20
21	V	25 000	ooo	xx	I	0,3	x	1,35	12	65	3,3	z ₂	7,60
22	V	25 625	ooo	xx	II	0,4	xx	1,9	13	38	21,1	gl ₂	7,20
23	M	27 500	oo	xxx	II	0,2	xxx	1,7	ca. 10	28	3,0	gl ₂	6,90
24	V	30 750	ooo	xx	II	0,65	xx	2,65	ca. 12	70	3,5	fl ₁	7,90
25	V	32 750	ooo	xx	I	0,3	xx	1,3	12	47	2,3	gl ₂	7,10
26	M	52 000	oo	xx	II	0,15	x	1,6*	>12	35	13,3	gl ₃	6,64
27	V	52 000	ooo	xx	II	0,35	xx	1,3	5,0	73	1,9	gl ₂ —z ₁	7,60
28	M	74 000	oo	xx	I	0,35	xx	1,5	8,0	55	25,0	gl ₁	6,70
28a	E	79 000	oo v. Kasein	xxx	II	2,75	xxx	0,4*	>10,0	72	1,1	k ₁	6,46
29	V	85 250	ooo w. Str.?	xx	I	0,3	x	3,3	ca. 13,5	43	1,0	z ₃	6,00
30	V	86 500	oo	xx	II	0,35	xx	1,2	6,5	90	5,0	gl ₃ —bl ₁	7,70
31		106 800	ooo	xxx	II	0,55	xx	4,25*	12,0	24	9,5	gl ₂	6,64

Lfd. No.	Keimzahl pro ccm	Mikroskopisches Bild	Sediment		Katalase ccm O ₂	Reduktions- zeit Std.	Milchsäure- bakt. %	Coli-Bakt. %	Gär- probe	Acidität
			°/∞	Schmutz						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
32	108 700	ooo xxx II	0,45	xxx	1,62	10,0	56	12,2	gl ₂	7,60
32a	114 400	ooo xxx II	0,65	xxx	4,25*	9,0	51	60,6	gl ₂	7,36
32b	155 000	ooo s. v. Str. xx V	0,6	xx blutig	7,75	7,5	20	100,0?	gl ₂ —bl ₂	8,00
32c	164 800	ooo xxx III	0,25	xxx	3,4*	>8	?	5,9	gl ₂ —bl ₁	6,72
33	183 700	oo xx III	0,65	xx	2,3*	10,0	48	4,4	gl ₂	6,90
34	185 500	ooo z. v. M. B. xx II	0,5	xx	2,5*	10,0	27	4,7	gl ₂	6,50
35	187 800	ooo xx II	0,4	xx	3,15*	>9,0	48	4,4	gl ₂ —z ₁	6,76
36	200 000	ooo xxx III	0,5	xxx	2,10	7,0	80	25,0	gl ₁	7,90
37	205 400	ooo xxx II	0,15	xx	1,35	5,0	81	4,9	k ₁	8,00
37a	217 000	ooo xxx III	0,3	xxx	5,2	7,5	90	40,0	gl ₂	6,50
37b	223 000	ooo xx II	0,6	xx	4,15	6,0	88	100,0?	gl ₂	6,65
38	225 800	ooo v. Str. xx IV	1,45	xx	7,1*	>7,5	60	4,3	gl ₂ —z ₁	7,40
39	242 500	oo xxx II	0,15	xxx	2,05	6,0	78	7,0	gl ₂	6,60
40	246 000	ooo xx I	0,65	xx	3,2	7,5	69	4,4	gl ₂	7,70
40a	250 000	ooo xxx II	0,45	xxx	4,8	5,75	78	29,2	bl ₂	7,90
41	270 500	ooo v. Str. xxx IV	0,35	xxx	2,3*	8,0	80	5,1	bl ₂ —gl ₂	7,40
42	282 000	ooo xxx IV	0,3	xxx	3,1	7,5	50	20	gl ₂	8,10
42a	297 500	ooo xxx IV	0,45	xx	2,2	7,5	93	100,0?	gl ₁	6,60
43	310 000	ooo z. v. M. B. xx III	0,25	xx	2,5	6,25	68	25	gl ₁ —bl ₁	7,20
43a	310 000	ooo xxx V	0,2	xxx	1,3	7,0	64	100,0?	gl ₂	7,70
43b	390 000	ooo w. Str. xxx III	0,55	xxx	5,45*	10,0	16	2,5	gl ₂	7,12
43c	430 000	ooo xxx IV	0,25	xxx	7,35	6,5	77	?	gl ₁	7,40
44	485 000	ooo xx IV	0,35	xx	4,2	4,75	76	14,3	gl ₂ —bl ₁	7,60
45	490 000	ooo xxx III	0,75	xxx	7,25	>7,5	64	20,4	gl ₂	7,00
46	490 000	oo xx II	0,1	x	1,2	5,8	63	20	gl ₂ —bl ₁	7,00
47	506 000	ooo xx III	0,35	xx	2,45	6,25	43	15,9	gl ₂	7,05
48	510 000	ooo xxx V	0,4	xxx	3,1	6,25	67	6,5	gl ₂ —z ₁	7,10
48a	510 000	ooo xxx V	0,15	xxx	1,5	3,5	?	22,2	bl ₂	6,50
49	632 000	oo xxx IV	0,2	xxx	2,05*	>8,0	86	1,5	gl ₂	6,20
50	635 000	oo xx III	0,2	xx	1,85*	7,0	94	1,6	gl ₁	6,52
51	692 000	ooo x III	0,4	x	2,0*	>9,0	70	1,4	gl ₂	6,96
52	730 800	ooo w. Str., v. M. B. xx IV	0,2	xx	2,85*	4,75	67	1,6	gl ₂	7,64

Lfd. No.	Keimzahl pr cem	Mikroskopisches Bild	Sediment		Katalase cem O ₂	Reduktions- zeit Std.	Milchsäure- Bakt. %	Coli-Bakt. %	Gär- probe	Acidität
			°/∞	Schmutz						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
53	735 000	ooo xxx IV w. Str.?, z. v. M. B.	0,4	xxx xx	2,6*	5,0	29	1,9	gl ₂	8,20
54	743 000	ooo w. Str.? xxx IV	0,12	xxx	3,5*	5,75	64	1,4	gl ₂	7,40
54a	823 000	ooo xxx III o x	0,4	xxx x	4,55	6,5	17	1,6	gl ₂ —bl ₁	6,36
55	935 000	ooo z. v. M. B. xx V	0,3	xx	3,1	2,25	84	10,0	gl ₁	7,60
56	962 500	oo w. Str.? xxx V x	0,2	xx	3,05*	3,75	75	11,1	k ₁	6,86
57	1 082 000	ooo w. Str.? x III o	0,45	—	3,35*	>9,0	80	0,8	gl ₂ —z ₁	7,26
58	E 1 096 000	ooo s. v. Str. x IV oo	0,6	— blutig	6,3*	>7,0	48	0,7	fl ₂ —z ₁	6,80
59	1 120 000	ooo xxx IV xx	0,4	xxx	3,35	5,75	67	7,4	gl ₂ —bl ₁	6,50
60	1 200 000	ooo xxx IV o	0,25	xxx	1,25*	5,75	67	0,8	gl ₂	6,04
60a	1 430 000?	oo v. M. B. xx VI	0,2	xx	4,5	0,9	?	9,1	gl ₂	7,30
61	1 640 000	ooo xx III	0,3	xxx	4,4	4,3	85	8,3	gl ₂	7,20
62	1 680 000	ooo z. v. M. B. xx III oo	0,3	x	5,8	3,25	75	3,4	gl ₂	6,60
62a	1 680 000	ooo xxx V o xx	0,4	xxx	2,75	5,0	20	0,6	gl ₂	7,00
63	1 700 000	ooo z. v. M. B. xxx IV	0,3	x	3,45*	4,25	43	0,7	gl ₂	7,56
63a	1 750 000	o xxx V xxx	0,1	xxx x	2,6	4,0	50	22,2	gl ₃	8,10
64	1 760 000	oo z. v. Str. x IV	0,25	—	2,7*	5,5	72	0,6	gl ₂	6,60
65	2 000 000	ooo xxx V xx	0,3	xxx	2,2	3,0	86	6,3	gl ₂	6,80
66	2 023 000	ooo w. Str.? xx V o	0,35	xx	4,7	5,25	92	5,9	gl ₃ —bl ₂	6,70
67	2 075 000	ooo z. v. M. B. xxx V x	0,15	xxx	1,8	5,0	52	0,7	gl ₂	8,10
67a	2 150 000	oo z. v. M. B. xxx V	0,15	xxx	1,65	4,75	90	?	gl ₃ —z ₁	6,30
68	2 445 000	oo z. v. M. B. xxx III xx	0,3	xxx	2,05	4,75	85	4,3	gl ₂	7,90
68a	2 545 000	o z. v. M. B. xxx V x	0,35	xxx x	4,1*	5,75	?	0,4	gl ₃	6,90
69	3 075 000	ooo s. w. Str.? xxx II o	0,4	xxx	5,3	3,3	95	0,3	gl ₂	7,06
70	4 750 000	ooo v. M. B. xxx III	0,2	xxx	2,25	1,25	75	2,1	gl ₂	7,20
71	5 310 000	oo z. v. M. B. xxx VI xx	0,3	xxx x	2,9	2,0	89	1,9	k ₁ —z ₂	7,40
71a	5 670 000	ooo xxx V x	0,35	xxx	7,25	2,5	95	20,0	gl ₃	7,10
72	6 450 000	oo xxx V xx	0,2	xxx	4,2	2,2	67	12,5	gl ₃ —bl ₁	6,50
73	6 800 000	ooo v. Str. xx V oo	0,2	xx	2,75	2,25	82	1,5	gl ₃	6,70
73a	7 153 000	ooo xxx IV oo xx	1,6	xxx xx	14,3*	2—4	77	1,4	gl ₃	6,76
73b	7 490 000	ooo w. Str. xxx VI o xx	0,3	xxx	6,6	2,8	47	9,1	gl ₃ —bl ₁	8,00
73c	7 500 000	ooo xxx V oo x	0,4	xxx	6,15	1,4	?	1,4	gl ₃ —bl ₁	7,30
74	9 300 000	oo xxx V xx	0,35	xxx	4,55*	2,0	80	1,1	gl ₂	6,00

Lfd. No.	Keimzahl pro ccm	Mikroskopisches Bild		Sediment		Katalase ccm O ₂	Reduktions- zeit Std.	Milchsäure- bakt. %	Coli-Bakt. %	Gär- probe	Acidität	
				°/oo	Schmutz							
1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11	
74a	9 933 000	ooo o	xxx xx	VI	0,3	xxx	4,5	3,0	?	11,8	gl ₃ —bl ₁	6,80
75	10 250 000	ooo z. v. Str.	xxx x	V	0,3	xxx	4,0	2,75	66	4,8	gl ₂	6,90
76	10 450 000	ooo w. Str.	xx	V	0,4	xx	7,3	3,0	83	8,3	gl ₃ —bl ₂	7,20
77	11 100 000	oo v. M. B. v. Kasein	xx	IV	0,6	xx	4,2	2,0	77	0,9	gl ₂	7,20
78	11 250 000	oo	xxx xx	VI	0,3	xxx x	2,7*	1,7	87	0,9	gl ₂	7,84
78a	11 575 000	oo	xxx	V	0,25	xx	2,45	3,5	49	9,1	gl ₃	6,80
79	11 775 000	ooo o	xxx x	VI	0,25	xx	6,5	1,2	65	7,1	gl ₂	6,94
80	12 000 000	oo	xxx x	VI	0,3	xxx	2,25	1,5	90	14,3	gl ₃ —bl ₁	7,50
81	18 125 000	ooo v. M. B. oo	xxx	VI	0,4	xx	8,4	1,2	65	5,7	gl ₂	7,40
82	18 250 000	oo	xxx xxx	IV	0,3	xxx x	4,5	1,6	100	5,6	gl ₂ —bl ₁	6,40
82a	18 650 000	ooo w. M. B. o	xx	V	0,35	xx	4,3	0,9	60	0,1	gl ₂	6,90
83	20 000 000	oo	xxx xx	V	0,2	xxx	4,15	1,0	83	0,5	gl ₂	8,00
83a	20 000 000	o v. M. B.	xx	V	?	xx	3,55	0,5	83	4,6	gl ₂	7,70
84	21 000 000	ooo w. Str.	xx	V	0,3	xx	2,15	2,3	100	4,7	gl ₂	8,00
85	23 500 000	o s. v. M. B.	xxx	V	0,15	xx	2,65	0,3	94	4,3	gl ₁	8,26
85a	39 600 000	oo v. M. B.	xxx	VI	0,35	xx	5,2	0,3	95	27,0	gl ₂	8,50
86	46 000 000	ooo v. M. B.	xxx x	VI	0,4	xxx x	6,0	0,5	90	2,4	gl ₃	6,70
87	49 500 000	oo v. M. B.	xxx xx	VI	0,1	xxx	2,95	0,75	82	1,7	gl ₂	7,80
88	68 750 000	ooo s. v. M. B.	xxx	VI	0,3	xxx	7,5	0,5	100	1,4	gl ₂	8,10
89	70 000 000	oo v. M. B.	xxx xxx	VI	0,4	xxx x	7,7	0,25	95	1,4	gl ₃ —bl ₁	7,50
89a	85 000 000	oo	xx	VI	0,35	xx	5,75	0,7	?	0,1	gl ₃	7,30
90	142 000 000	oo	xxx	VI	0,55	xxx x	3,45	0,3	98	0,8	gl ₂	7,80

Zeichenerklärung zu vorstehender Haupttabelle.

Die Vorzugsproben sind durch ein V, die aseptisch ermolkenen durch A, die beiden Extra-Proben (Magermilch und Mischung aus Mastitis- und Vorzugsmilch) durch E und die Marktmilchproben mit weniger als 100 000 Keimen mit M bezeichnet. Ferner bedeutet:

	Leukocyten	Schmutz	Bakterien
sehr wenig	o	x	I
wenig	oo	xx	II
ziemlich viel	ooo	xxx	III
viel	ooo	xxx	IV
	o	x	
sehr viel	ooo	xxx	V
	oo	xx	
abnorm viel	ooo	xxx	VI
	ooo	xxx	

Str. = Mastitis-Streptokokken; Schl. = Schleim; w. = wenig; s. w. = sehr wenig; v. = viel; s. v. = sehr viel.

* in der Katalase-Kolonne bezeichnet die durch Multiplikation mit dem Faktor 1,85 umgerechneten Werte.

Nach den in der Haupttabelle zusammengestellten Zahlen würde sich im vorliegenden Falle folgende Verteilung auf die verschiedenen Gruppen ergeben:

Reduktionszeit (Std.)	> 14	14—7	7—2	2— $\frac{1}{4}$	< $\frac{1}{4}$
Keimgehalt	< 100 000	ca. 10 000 bis 1 100 000	ca. 50 000 bis 21 000 000	ca. 1 000 000 bis 142 000 000	> 70 000 000

Keineswegs soll der Reduktionsprobe jede Anwendungsmöglichkeit abgesprochen werden. Sie ist jedoch zweifellos nur da am Platze, wo es sich um vorläufige und lediglich zur allgemeinen Orientierung bestimmte Prüfungen handelt. Z. B. kann man ziemlich sicher sein, daß Milch, die innerhalb 2 Stunden entfärbt ist, mehr als 1—1½ Million, solche, die mehr als 7 Stunden braucht, weniger als 1—1½ Million Keime enthält. Damit wäre für die Beurteilung der Marktmilch immerhin etwas gewonnen.

Die G ä r p r o b e hat sich von neuem als eines der vorzüglichsten Hilfsmittel bei der Bewertung der Milch bewiesen. Der Vereinigung dieser mit der Reduktaseprobe zur „Gärreduktaseprobe“ stehen, wie oben dargelegt wurde, Bedenken entgegen. Nach Weigmann¹⁾ hätte die Katalaseprobe Anspruch darauf, die Gärprobe zu ersetzen oder wenigstens zu ergänzen. Sofern der genannte Autor der Ansicht sein sollte, daß es mit Hilfe der Katalaseprobe möglich sei, blähende Milchproben mit einiger Sicherheit ausfindig zu machen, so kann dem auf Grund der erlangten Resultate nicht beigespflichtet werden. Von 20 blähenden Milchproben spalteten nur 8 (= 40%) mehr als 4,5 ccm Sauerstoff ab; bei Barthel waren es von 28 sogar nur 6. Will man (was aber zweifellos zu niedrig ist) als „normale“ Katalasezahl 3 annehmen, so bleiben doch noch 6 bzw. 18 blähende Proben unterhalb dieser Grenze.

Der Ausfall der S ä u r e p r ü f u n g , der A l k o h o l - und der K o c h - p r o b e bot in keinem Falle ein bemerkenswertes Resultat. Zur hygienischen Beurteilung der Handelsmilch sind diese Methoden nicht geeignet.

Insgesamt folgt aus diesen Untersuchungen, daß die Gärprobe in Verbindung mit der Ermittlung der Menge und dem mikroskopischen Aussehen des Sedimentes zweifellos die besten Auskünfte über die Beschaffenheit einer Milchprobe zu gewähren im Stande ist. Nimmt man eventuell noch die Reduktionsprobe (aber nicht in direkter Kombination mit der Gärprobe) hinzu, so hat man die z. Z. vollkommenste Prüfung. Aber sämtliche Milchprüfungs-Methoden können weder im einzelnen noch in ihrer Gesamtheit die besonders bei der Lieferung von Vorzugsmilch unbedingt erforderliche fortlaufende Kontrolle der Gesundheit des Personals und des Viehbestandes ersetzen.

L ö h n i s (Leipzig.)

¹⁾ Weigmann, Mykologie der Milch. 1911. p. 245.

Originalberichte über Kongresse, Versammlungen etc.

Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen, Sitzung vom 28.—30. Dez. 1910.

Moore, V. A., Ansprache des Präsidenten über die Bakteriologie in der allgemeinen Erziehung.

Diese Ansprache ist im ausführlichen Wortlaut in der Science am 24. Februar 1911 erschienen.

Rahn, Otto, Über die Gärkraft der einzelnen Bakterienzelle (*Bacterium lactis acidii*).

Man kann annähernd die Menge der Stoffwechselprodukte bestimmen, die eine einzelne Bakterienzelle innerhalb einer Stunde bildet. Diese Maßeinheit wird als „Gärkraft“ bezeichnet. Bei solchen Bestimmungen handelt es sich darum, die zwei Faktoren der bakteriellen Lebenstätigkeit, Wachstum und Gärwirkung, zu trennen. Zur Zeit kann man eine solche Trennung nur mittels mathematischer Berechnung vornehmen. Die Gärkraft der einzelnen Zelle ergibt sich annähernd aus der Gleichung:

$$x = \frac{S \log 6/a}{t(b-a) \log 2}$$

wobei S die Menge der während der Zeit t gebildeten Stoffwechselprodukte, a die Zahl der Zellen zu Beginn des Versuches und b die nach Ablauf der Zeit t ist. Die Gärkraft einer einzelnen Bakterienzelle von *Bacterium lactis acidii* ist durchschnittlich etwa 0,000 000 001 bis 0,000 000 004 mg Milchsäure stündlich. Diese Menge schwankt innerhalb derselben Grenzen wie das Gewicht der Bakterienzellen.

Alte Kulturen des *Bacterium lactis acidii* haben, wenn man sie in frische Milch überträgt, nur eine sehr langsame Gärwirkung, weil sowohl ihre Fortpflanzungsfähigkeit, als auch ihre Gärkraft erheblich vermindert ist, und zwar beides etwa in gleicher Weise. Höhere Temperaturen begünstigen Wachstum wie Gärkraft. Milchkulturen und Laktosenährböden mit einander verglichen, zeigen in der Milch ein stärkeres Wachstum, in den Laktosenährböden aber eine stärkere Gärkraft. Sauerstoff setzt die Gesamtmenge der gebildeten Säure herab; bei den beiden verarbeiteten Stämmen war der Einfluß auf die Gärkraft größer als der auf das Wachstum. Übertragungen in zuckerfreie Nährböden, die 32 Tage hintereinander fortgesetzt wurden, beeinflussten die Gärkraft gar nicht.

Die oft aufgestellte Behauptung, daß bei jungen Kulturen ein Wachstum ohne Gärung stattfände, ließ sich durch die Versuche nicht bestätigen. Die Menge der Stoffwechselprodukte, die von einer geringen Anzahl Zellen gebildet werden, muß ja so unbedeutend sein, daß man sie mit chemischen Reaktionen nicht nachweisen kann. Von dem Augenblick an, wo eine chemische Reaktion bemerkbar ist, ist auch die Zunahme gleichmäßig; für irgendwelche Abweichungen spricht nichts. Dies trifft indessen mit Sicherheit nur für wirkliche Gärprodukte zu; bei Toxinen, die vielleicht sekundäre Produkte sind, mögen andere Gesetze gelten.

Beckwith, T. D., Ein halophytischer *Diplococcus*.

Im Sommer 1907 und 1910 war die Ursache dafür, daß gesalzene Stockfische und andere Schmelzschupper bei ihrer Aufbearbeitung für den Markt sich rot färbten, anscheinend ein *Diplococcus*, der sich jedoch mit den gewöhnlichen Nährböden nicht züchten ließ. Man versuchte ganz besondere

Zubereitungen: zuerst einen Aufguß von gewöhnlichem gesalzenem und unzubereitetem, kleingeschnittenem Stockfischfleisch (100 Teile) in destilliertem oder Regenwasser (1000 Teile) unter Zusatz von 2 Proz. Agar-Agar. Sodann wurde ein Nährboden hergestellt aus einer Sauce von Flundern, die mit destilliertem oder Regenwasser unter Zusatz von 2 Proz. Agar-Agar verdünnt wurde. Diese Nährböden hatten durchschnittlich einen Kochsalzgehalt von 5,25 Proz.

Auf diesen Nährböden entwickelten sich bei 30° C nach 96 h lachsfarbene Kolonien, wenn man verfärbtes Fischfleisch auf Platten verarbeitete. Die vorherrschende Kolonienart war ein *Diplococcus*. Diese Kokken sind in frisch isolierten Kulturen 0,4–0,5 μ im Durchmesser; später, nach öfterer Umimpfung im Verlaufe von zwei Jahren, wiesen sie angeschwollene Involutionsformen von bis zu 1 μ Größe auf. Bilder des *Diplococcus* ähneln bis zu einem gewissen Grade dem *Gonococcus*. Sie färben sich leicht mit den gewöhnlichen Farben, wie Karbolfuchsin und Methylenblau; sie sind Gram-positiv, unbeweglich, haben jedoch eine sehr lebhaft Molekularbewegung. Kapseln ließen sich nicht nachweisen, wensschon die Kolonien unter Wasser leichte Anzeichen einer vorhandenen Zooglöa erkennen lassen. Sie sind obligate Aëroben. Die Kolonien messen 1–2 mm im Durchmesser und haben einen leicht erhabenen Rand. Was die Farbstoffbildung betrifft, so sind die Kolonien lachsfarbig; indessen nimmt die Färbung bei wiederholter Umimpfung etwas ab, bis sie mehr weißlich wird. Reinkulturen weisen auf dem gewöhnlichen Bouillonagar ein sehr schwaches Wachstum auf, gedeihen aber auf den anderen üblichen Nährböden nicht.

Eine Beschreibung dieses *Diplococcus* konnte nirgends aufgefunden werden; man muß ihn wohl für eine neue Spezies halten. Da er auf gesalzenem Fleisch so ziemlich aller zu derselben Familie gehörigen Fische gefunden wird, soll der Name *Diplococcus gadidarum* n. sp. in Vorschlag gebracht werden.

Weiterhin ließ sich zeigen, daß man den Mikroorganismus auf gewöhnlichem Bouillonagar plus 7–10 Proz. NaCl isolieren kann; doch ist diese Methode nicht immer von Erfolg begleitet.

Mit Rücksicht darauf, daß die von dem Mikroorganismus befallenen Fische einer sehr raschen, durch seine Stoffwechselfunktionen bedingten Zersetzung unterliegen, und daß die Bakterien als Charakteristikum eine solche Vorliebe für Salz haben, wurden sie vergleichsweise in Salznährböden mit den beiden Hauptvertretern der Eiweißzersetzung untersucht, nämlich dem *B. subtilis* und dem *B. fluorescens liquefaciens*. Es wurden Serien angelegt von gewöhnlichem Bouillonagar von neutraler Reaktion mit steigendem Zusatz von NaCl. Die Platten wurden 96 h bei 30° C bebrütet. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Wachstumshemmung bei diesen Nährböden; sie zeigt, wie erheblich halophytisch der beschriebene *Diplococcus* ist

Prozent Kochsalz	0	1	2	3	4	5	6	7	10	12,5	15	20
<i>Diplococcus gadidarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus fluorescens liquefaciens</i>	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0

Als Optimum ergibt sich für den *Diplococcus gadidarum* n. sp. ein Gehalt von 5–10 NaCl, für *B. subtilis* und *B. fluorescens liquefaciens* 0–0,1 Proz.

In Gloucester und später in unseren Laboratorien wurden wiederholt

Ausstrichpräparate von Teilen des Fischfleisches angefertigt, die den am stärksten rotgefärbten Partien längs der Wirbelsäule, wo die Rötung am augenfälligsten ist und zuerst zur Beobachtung gelangt, entnommen waren; dabei war der *Diplococcus* die vorherrschende Bakterienform. Auch hierbei hat man den Eindruck, daß diese Diplokokken dasjenige Agens sind, welches bei der Rötung zubereiteten Salzfleisches von Fischen die stärkste zersetzende Wirkung ausübt. Im Sommer 1907 war dieser Diplokokkus an den untersuchten Proben in überwiegender Menge vorhanden; es ist aber vielleicht möglich, daß je nach den besonderen Witterungsverhältnissen in den verschiedenen Jahren im Sommer die Art der vorherrschenden Bakterien wechselt, so daß andere Sorten unter den verschiedenen Mikroorganismen als diejenigen, welche als die Ursache der „Fischröte“ zu betrachten sind, bezüglich der Zersetzung die Oberhand gewinnen können. Es dürfte sich lohnen, diese Fragen eingehender zu untersuchen.

Conn, H. W., Die Bakterienflora der Milch.

Dieser Vortrag gibt einen allgemeinen Überblick über den augenblicklichen Stand der Bakteriologie im Molkereiwesen; er geht auch auf die Bedeutung ein, welche die Bakteriologie bei der Kontrolle der städtischen Milchversorgung hat. (Sekretär.)

Harding, H. A. und Wilson, J. K., Beziehungen zwischen der Form des Melkeimers und dem Keimgehalt der Milch.

Die erste wesentliche Infektion der Milch findet während des Melkgeschäftes statt.

Die gewöhnlichen Melkeimer haben oben eine Öffnung, die 12 Zoll oder noch mehr mißt. Man hat eine große Anzahl verbesserter Eimer erfunden, aber nur wenige haben bei den Meiern günstige Aufnahme gefunden.

Der Grund, weshalb sie abgelehnt werden, liegt vor allem in ihrer zu großen Höhe und in der unbequemen Gestalt und Form der zur Aufnahme der Milch bestimmten Öffnung.

Es wurden verschiedene Arten von Eimern untersucht. Dabei ergab sich, daß ein guter Eimer nicht höher als 12 Zoll sein soll, und daß die Öffnung ungefähr 25 Quadratzoll weit sein muß. Eine ovale oder elliptische Öffnung ist bequemer als eine gleichgroße runde.

Stocking stellte fest, daß es nicht zweckmäßig ist, an den Eimer Tücher oder mechanische Seihvorrichtungen anzubringen und daß Eimer mit enger Öffnung unter bescheidenen Verhältnissen der Molkerei einen größeren Einfluß hatten. Lagen die Verhältnisse der Molkerei besonders günstig, so konnte bei vergleichsweiser Verwendung eines gewöhnlichen 18 Zoll weiten offenen Eimers und eines guten Eimers mit enger Öffnung die Keimzahl um mehr als 50 Proz. herabgedrückt werden. Da ein solcher Eimer ebenso bequem und ungefähr ebenso billig ist wie ein gewöhnlicher Eimer, so ist nicht einzusehen, warum man ihn nicht allgemein anwenden sollte.

Rogers, L. A., Die Verwendung von Gärproben bei der Untersuchung von Milchsäurebakterien.

Es konnte festgestellt werden, daß die Merkmale, welche gewöhnlich bei Beschreibung der Milchsäurebakterien angegeben werden, zu unbestimmt oder zu schwankend sind, als daß man diese Gruppe daraufhin in Unter-

abteilungen einteilen könnte. Insbesondere ist die Gerinnung der Milch sehr wechselnd und unsicher.

Die Vergärung gewisser Körper erwies sich dagegen als konstant und ergibt bei genügend genauer Versuchsanordnung Anhaltspunkte für eine natürliche Gruppierung.

Mit Hilfe solcher Probegärungen ließen sich die 150 untersuchten Kulturen in drei Gruppen einteilen. Jede derselben ließ sich unterscheiden durch vorhandene oder fehlende Vergärung gewisser Arten von solchen Körpern.

Breed, R. S. und Stedger, J. Read, Die normale Zahl von Körperzellen in Kuhmilch.

Bericht über einige derartige Bestimmungen, die im Alleghany College und der Universität in Göttingen vermittelt der von Prescott und Breed (vgl. Journal of Infectious Diseases 1910) angegebenen Methode zur direkten Zählung der Zellen ausgezählt worden sind. Eine Reihe Untersuchungen wurde an auf verschiedene Weise gewonnenem Rahm und abgerahmter Milch vorgenommen, um festzustellen, was mit diesen Zellen geschieht, wenn man die Milch absetzen läßt oder zentrifugiert. Die erzielten Ergebnisse waren so schwankend, daß man schließlich zu dem Schlusse kommen mußte, keine der Methoden, bei denen die Zentrifuge Verwendung findet, ist so befriedigend in ihren Resultaten, um aus der Zahl der vorhandenen Zellen irgend etwas folgern zu können. Weiterhin kommt man daraufhin notwendigerweise zu dem Schluß, daß alle auf der Anwendung dieser Methode beruhenden Untersuchungen, mögen sie noch so sorgfältig und gewissenhaft ausgeführt sein, wertlos sind, sofern sie sich allein auf zahlenmäßige Angaben stützen. Bei täglicher, sechs Wochen fortgesetzter Untersuchung der Milch dreier normaler Kühe stellte sich heraus, daß die Zahl dieser Zellen periodisch schwankt und, ohne daß sich irgendwie in dem Verhalten der Milch etwas Abnormes bemerkbar macht, Abweichungen von 0 bis 20 000 000 und mehr zeigt.

Harding, H. A., Über den Wert bakteriologischer Keimzählungen bei der Kontrolle städtischer Milchversorgungen.

Ihr erzieherischer Wert ist nur gering, weil die Landwirte nicht in der Lage sind, solche zahlenmäßigen Ergebnisse in Beziehung zu bringen zu den Handgriffen des landwirtschaftlichen Betriebs und auch die Untersucher im Laboratorium dies nicht können, bis sie nicht die besonderen Schwierigkeiten auf andere Weise beseitigt haben.

Als gesetzlich festzulegende Grenzwerte haben zahlenmäßige Untersuchungsergebnisse nur einen sehr beschränkten Wert, da sie je nach der angewendeten Technik in so weiten Grenzen schwanken. Ein Unterschied von 100 Proz. zwischen dem Ergebnis zweier gleich anerkannter Untersuchungsmethoden ist häufig zu beobachten.

Keimzählungen sind nicht unbedingt notwendig, da man auch ohne Keimzählungen die besten Erfolge bei den Bemühungen um Verbesserung der städtischen Milchversorgung erzielen kann.

Sie sind ganz brauchbar als Kontrolle der Molkereiinspektoren und um ausfindig zu machen, welche Landwirtschaftsbetriebe einer genaueren Beaufsichtigung bedürfen. Wo der Aufsichtsbeamte zu einer eingehenden Beaufsichtigung aller Betriebe nicht in der Lage ist, kann die bakteriologische

Untersuchung ihm geeignete Fingerzeige geben, wohin er sein Hauptaugenmerk zu lenken hat.

Ihr Hauptwert beruht darauf, daß man den Grad der Verunreinigungsquellen abschätzen kann. In vieler Hinsicht fehlen uns aber noch die zahlenmäßigen Unterlagen und tausende von Dollars werden bei vergeblichen Versuchen, eine einwandfreie Milch zu gewinnen, vergeudet, weil man die Wichtigkeit der verschiedenen Infektionsquellen verhältnismäßig nicht genügend würdigt.

Parsons, Payn B., Apparat zur Entnahme von Wasser aus größerer Tiefe.

Beschreibung eines Apparates zur Entnahme von Wasserproben für bakteriologische Untersuchung an Stellen, wo das Wasser sehr tief und die Strömung sehr stark ist.

Ein einziger Bindfaden ist vorgesehen, um den Bleiröhrenbehälter herabzulassen und hochzuheben und die Nase des luftleeren Röhrchens abzubrechen oder den Stopfen herauszuziehen.

Auch ein Apparat zur Entnahme von Wasserproben für chemische Untersuchung wird beschrieben und ein solcher für Untersuchung auf gelösten Sauerstoff, wenn die Probe einer besonders großen Wassertiefe entnommen und in starker Strömung die Entnahmestelle genau innegehalten werden muß.

Parsons, Payn B., Bakterien im Wasser des New-Yorker Hafens.

Übersicht über den durchschnittlichen Bakteriengehalt des Wassers im New-Yorker Hafen an der Oberfläche und am Grunde im Jahre 1909.

Übersicht über den durchschnittlichen Bakteriengehalt des Wassers im New-Yorker Hafen zu Ebbe- und Flutzeiten im Jahre 1909.

In die Übersichten sind auch die Durchschnittszahlen von 1082 Wasseruntersuchungen aufgenommen, die für die New-York Kommission für städtische Abwasserbeseitigung ausgeführt worden sind.

Besprechung der großen Gefahren, denen zur Zeit die Bevölkerung dadurch ausgesetzt ist, daß große Mengen Abwasser in den New-Yorker Hafen eingelassen werden, mit besonderer Berücksichtigung der Bäder und der Austernfischerei.

Parsons, Payn, B. Die Stärke der Verunreinigung gemessen nach der Zahl der Bakterien.

Gegenüberstellung der Bakterienzahl an verschiedenen Stellen des New-Yorker Hafens, zugleich Vergleich der Zahlen, die man bei Proben aus dem Atlantischen Ozean und an solchen Stellen findet, die einer ziemlich hochgradigen Verunreinigung ausgesetzt sind.

Zusammenstellung der durchschnittlichen Bakterienzahlen in jedem einzelnen Teile des Hafens zur Zeit von Ebbe und Flut.

Übersicht über den durchschnittlichen Bakteriengehalt im Vergleich zu dem prozentualen Sauerstoffgehalt des Wassers in den verschiedenen Teilen des New-Yorker Hafens je nach der Tiefe und den Gezeitenströmungen im Jahre 1909. 800 Sauerstoffbestimmungen und 1082 bakteriologische Untersuchungen sind zu diesen Durchschnittsberechnungen verwendet; sie wurden für die New-Yorker Kommission für städtische Abwasserbeseitigung ausgeführt.

Vergleich der Keimzahlen in Schlammhäfen des Hafengrundes, je nachdem die Proben aus verunreinigten oder sauberen Teilen des Hafens stammten.

Beziehungen von Fahrtrinnen und Untiefen zu Ablagerungen auf dem Grunde und ihre Bedeutung für die Austernfischerei.

Sullivan, M. H., Biochemische Faktoren im Boden.

Der Boden ist nicht ein lebloser Speicher für pflanzliche Nahrungsstoffe, sondern ist ein Herd für physikalische, chemische und vitale Vorgänge, wobei biochemische Faktoren eine ganz besondere Rolle spielen. Zahlreiche Stoffe, die sich im Boden finden und entweder den Stoffwechselvorgängen von Mikroorganismen entstammen oder als Zersetzungsprodukte pflanzlicher oder tierischer Überreste zurückbleiben oder auch Ausscheidungsprodukten der Wurzeln oder abgestreiften Zellmembranen ihren Ursprung verdanken, spielen bei der Fruchtbarkeit eines Bodens eine große Rolle. Manche von diesen Stoffen sind für die Pflanzen schädlich, andere nützlich. Fruchtbringende Sorten beteiligen sich an den Vorgängen im Boden in der Richtung, daß sie die physiologischen Funktionen der Mikroorganismen insofern beeinflussen, als sie die Bedingungen für ihre Entwicklung günstiger gestalten, ihre verdauende Einwirkung toter Materie gegenüber anregen oder hemmen und ihre enzymatischen Funktionen fördern. Der Boden an sich hat oxydierende und katalytische Eigenschaften, magerer Boden allerdings in weit geringerem Grade. Die Oxydation in tieferen Bodenschichten, die auch wesentlich weniger fruchtbar sind als die Bodenoberfläche, ist gewöhnlich sehr schwach.

Conn, H. J., Bakterien im gefrorenen Boden.

Die Ergebnisse von Untersuchungen in Ithaka, N.-Y., in den Jahren 1909—1910; es fand sich eine bedeutende Zunahme der Bodenbakterien im Winter. Die Zahlenangaben der Resultate sind bereits veröffentlicht (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. p. 422—434). Die qualitativen Untersuchungen beziehen sich auf gegen 300 Kulturen.

Quantitative Ergebnisse: Zunahme von 7 Millionen pro Gram im November 1909 auf 33 Millionen im Februar 1910, und von 8 im November 1910 auf 22 im Dezember 1910. Solche Ergebnisse sind neu, werden aber durch frühere Untersuchungen nicht entkräftet.

Erklärungsversuch: Es scheinen zwei verschiedene Gruppen von Bakterien vorhanden zu sein; die eine vermehrt sich bei warmem, die andere bei kaltem Wetter; die erstere bedarf so großer Mengen von Nahrungsstoffen, daß eine rasche Vermehrung nicht möglich ist.

Beweise für diesen Erklärungsversuch:

Beziehungen zum Feuchtigkeitsgehalt. Bakteriengehalt und Feuchtigkeit laufen gewöhnlich parallel. Die Ausnahmen von dieser Regel sind derartig, daß sie einen Wechsel der vorherrschenden Arten vermuten lassen.

Verhältnis der Anzahl der vorhandenen Schnellverflüssiger, Aktinomyeten und langsam wachsenden Arten, von denen die letzteren im Winter zunehmen.

Qualitative Ergebnisse. Gewisse Mikroorganismen finden sich das ganze Jahr hindurch; andere treten nur zu Zeiten auf und zeigen eine gewisse Neigung, im nächsten Jahre um dieselbe Zeit wieder zu erscheinen. Herbst und Winter weisen die größte Artenverschiedenheit auf. Klassifikation der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Arten:

- 1) Höhere fadenförmige Bakterien: *Actinomyces*.
- 2) Sporenbildende Schnellverflüssiger: Meist zur *B. subtilis*-Gruppe gehörig.
- 3) Sporenlose Schnellverflüssiger: Mit Ausnahme eines einzigen *Pseudomonas*-Arten.
- 4) Langsam wachsende Arten, sporenfrei, mit punktförmigen Kolonien, teils verflüssigend, teils nicht verflüssigend.

Bei den quantitativen Untersuchungen verwendete Nährböden: Gelatine 12 Proz., Dextrose 0,1 Proz., Bodenaufguß 20 Proz.; Reaktion mit 0,5 Proz. NaOH auf Phenolphthalein eingestellt. Der Bodenaufguß hierzu hergestellt durch 30 Minuten langes Kochen des Bodens in der gleichen Menge Wasser, dann Filtration.

Brutzeit bei den quantitativen Untersuchungen: 7 Tage; Bruttemperatur: 19° C.

Edwards, S. F., Lebensfähigkeit des *Ps. radicicola* auf Maltoseagar.

Im Sommer und Herbst 1906 waren Kulturen des *Ps. radicicola* von den Wurzelknötchen von neunzehn Wirtspflanzen auf Maltoseagar isoliert worden. Die Kolonien waren auf demselben Nährboden in Freudenreichschen Kolben übergeimpft worden, und hatten auf einem dunklen Regal bei der Zimmertemperatur eines Laboratoriums gestanden. Im Herbst 1910 wurden von diesen alten Kulturen Platten angelegt mit dem Resultate, daß bei fünfzehn noch lebende Mikroorganismen vorhanden waren. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Lebensfähigkeit des *Ps. radicicola* auf Maltoseagar.

Wirtspflanze	Noch lebensfähig nach		
	Jahren	Monaten	Tagen
Niedriger Erbsenstrauch (<i>Caragena frutescens</i>)	4	4	4
Wiesenklee (<i>Trifolium pratense</i>)	4	5	0
Saubohne (<i>Glycine hispida</i>)	Kein Wachstum auf Maltoseagar		
Wohlliehende Platterbse (<i>Lathyrus odoratus</i>)	4	0	10
Saaterbse (<i>Pisum sativum</i>)	4	2	17
Bastardklee (<i>Trifolium hybridum</i>)	4	3	21
Saatplatterbse (<i>Lathyrus sativus</i>)	4	4	16
Waldplatterbse (<i>Lathyrus silvester</i>)	Kein Wachstum auf Maltoseagar		
Wiesenklee (<i>Trifolium pratense</i>), isoliert von getrockneten Pflanzen von Medicine Hat, Alta	3	10	16
Futterluzerne (<i>Medicago sativa</i>)	4	2	9
Hopfenluzerne (<i>Medicago lupulina</i>)	4	4	16
Bohnenwicke (<i>Vicia faba</i>)	4	0	29
Weiß Robinie (<i>Robinia pseudoacacia</i>)	Kein Wachstum auf Maltoseagar		
Klebrige Robinie (<i>Robinia viscosa</i>), der Nährboden war von 28 mm auf 7 mm zusammengeschrumpft	4	4	12
Weißer Klee (<i>Trifolium repens</i>)	4	3	20
Schnittbohne (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	4	1	0
Feuerbohne (<i>Phaseolus multiflorus</i>)	Kein Wachstum auf Maltoseagar		
Zottige Wicke (<i>Vicia villosa</i>), der Nährboden war von 30 mm auf 5 mm zusammengeschrumpft	3	11	22
Weißer Honigklee (<i>Melilotus alba</i>), der Nährboden war von 24 mm auf 4 mm zusammengeschrumpft	4	4	14

Bei allen Stämmen, bei denen noch Wachstum erfolgte, waren die Kolonien typisch und bei gefärbten Präparaten und solchen im hängenden Tropfen waren die typischen Merkmale des *P. s. radicicola* zu erkennen.

Auch Versuche in Töpfen wurden angestellt mit Samen von Gras, Klee, Erbsen und Bohnen. Zur Zeit der Abfassung dieses Vortrages waren nur die Erbsen so weit entwickelt, daß sie untersucht werden konnten. Unter sechs nicht beimpften Kontrollpflanzen hatten drei keine Knötchen, die anderen drei je 1, 10 und 12. Sechs mit den Kulturen von 1906 beimpfte Pflanzen hatten 18, 33, 20, 25, 64, bzw. 25 Knötchen. Von den Knötchen angefertigte Bilder wiesen die für *P. s. radicicola* typischen zerbrochenen und verzweigten Formen auf, und auf Platten mit Maltoseagar zeigte sich nach fünf Tagen bei Zimmertemperatur üppiges Wachstum. Aus den Versuchen geht hervor, daß *P. s. radicicola* noch nach erheblich langer Aufbewahrung in Sammlungskulturen eines Laboratoriums nicht nur seine Lebensfähigkeit, sondern auch seine Wirkungsfähigkeit bewahrt.

Gage, Stephen de M., Untersuchungen über Nährböden für die Keimzählung in Wasser, Abwasser usw.

Verschiedenheiten in der Zusammensetzung des Fleischaufgusses. In einem früheren Aufsatz hat der Verf. darauf aufmerksam gemacht, wie groß die Verschiedenheit der nach den üblichen Methoden hergestellten Fleischaufgüsse bezüglich ihres Gehaltes an festen Bestandteilen ist; sie ist größer, als die Menge Pepton, die man bei der Zubereitung von Gelatine- oder Agarnährböden zu diesem Aufguß zusetzt. Damals (1904) wurde die Vermutung geäußert, man könne diese Fehlerquelle so ziemlich ausschalten, wenn man dem Fleischaufguß ein konstantes spezifisches Gewicht gäbe. Die in der Lawrence Experiment Station gemachten Aufzeichnungen ergaben, daß zwar das spezifische Gewicht der Aufgüsse von zur Gerinnung gebrachtem und filtriertem Fleisch, die nach der üblichen Vorschrift zubereitet worden waren, zwischen 1,100 und 1,005 schwanken kann, daß aber etwa die Hälfte der Proben ein spezifisches Gewicht von ungefähr 1,006 hatten; dieser Wert wurde also als Maßstab gewählt. Eine große Anzahl solcher Fleischaufgußproben, die auf das normale spezifische Gewicht von 1,006 gebracht worden waren, wurden analysiert; dabei ergab sich, daß der Spielraum ihres Gehaltes an Gesamtstickstoff und gesamten gelösten organischen und mineralischen Bestandteilen ebenso groß war, als ob eine Korrektur des spezifischen Gewichtes gar nicht stattgefunden hätte. Die beim Ablesen des spezifischen Gewichtes mit dem Hydrometer unterlaufenden Fehler betragen bis zu 10 Proz. Sorgfältige Untersuchungen und Zusammenstellungen der Ergebnisse lassen erkennen, daß die Zahl derjenigen Proben, deren Gesamtgehalt an festen Bestandteilen nicht mehr als um 10 Proz. von der normalen Menge abwich, sich von 55 Proz. bei Verwendung des gewöhnlichen Fleischaufgusses bis auf 75 Proz. bei Verwendung eines Aufgusses mit einem bestimmten spezifischen Gewichte steigern ließ; eine gleiche Zunahme der Gleichmäßigkeit läßt sich bei dem Gesamtgehalt an organischen Bestandteilen und Gesamtstickstoff feststellen. Mit anderen Worten: Die Verwendung eines Fleischaufgusses von konstantem spezifischem Gewicht bedeutet einen Schritt weiter auf dem Wege zur Herstellung von Nährböden mit möglichst gleichmäßiger Zusammensetzung und damit zu einer größeren Genauigkeit der Keimzählungen.

Rahn, Otto, Der Einfluß von Quarzsand auf Bakterienkulturen.

Dieser Vortrag beschäftigt sich mit dem Einfluß des Bodens auf die Mikroorganismen. Es wurde die Zersetzung von flüssigen Nährböden (Milch, Peptonlösung) mit der derselben Flüssigkeiten, wenn sie von Quarzsand absorbiert waren, verglichen, wobei sich erhebliche Unterschiede ergaben. Selbstverständlich nahmen die aeroben Prozesse wesentlich zu und die anaeroben ebenso ab, wenn die Flüssigkeiten in solchem Verhältnisse dem Sande zugesetzt waren, daß eine lebhafte Durchlüftung stattfinden kann. Hingegen wurden sowohl aerobe als auch anaerobe Prozesse begünstigt, wenn man ebensoviel Flüssigkeit zusetzte, daß der Sand gerade noch davon überspült war. Dies weist auf einen ganz besonderen Einfluß hin, den der Quarzsand auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen ausübt, einen Einfluß, der sich in Parallele setzen läßt zu der Verzögerung oder Hemmung von Giftwirkungen auf Pflanzenwurzeln lediglich durch Zusatz von Quarzsand. Eine Oberflächenanziehung auf die Mikroorganismenprodukte durch den Quarzsand kann zur Erklärung dieser Erscheinung nicht herangezogen werden.

Wilson, J. K., Untersuchungen über die Desinfektion von Grassamen.

Sterile Sämereien sind äußerst erwünscht, wenn nicht sogar unumgänglich notwendig, wenn man die Beziehungen der Bakterien zum Pflanzenleben untersuchen will.

Sterilen Leguminosensamen kann man aus den reifenden Schoten erhalten, man braucht aber gelegentlich auch solchen, wenn man ihn auf diese Weise nicht bekommen kann.

Daß man dazu Alkohol, Sublimat und Formalin verwenden kann, um sich sterilen Samen herzustellen, konnte an Grassamen erprobt werden.

Auf ihre Sterilität wurden so vorbehandelte Sämereien untersucht, indem sie in gewöhnlicher Bouillon bebrütet und mikro- und makroskopisch untersucht wurden.

Tauchte man Samen 105 Minuten in 70-proz. Alkohol, so waren sie nicht steril. Der Einfluß einer solchen Behandlungsweise auf die Keimfähigkeit wurde nicht untersucht.

Tauchte man sie 2 Minuten lang in 1 ‰ Sublimat und wusch sie dann elfmal in sterilem Wasser aus, so erhielt man keine Sterilität. Den Prozentsatz der keimfähigen Samen verringerte diese Prozedur nicht.

Tauchte man Samen 80 Minuten lang in 10 Proz. Formaldehyd, so waren sie nur in Ausnahmefällen steril. Die Keimfähigkeit war um 3 Proz. herabgesetzt.

Die Samen wurden zuerst in 95 Proz. Alkohol 10 Minuten belassen und dann verschieden lange, von 15 Minuten bis zu 6 Stunden, in 10 Proz. Formaldehyd getan. Nur die 6 Stunden lang behandelten Samen waren steril. Die Keimfähigkeit der 6 Stunden lang vorbehandelten Samen war um 65 Proz. herabgesetzt. Zehn Minuten lang dauernder Aufenthalt im Alkohol setzte die Keimfähigkeit nicht herab.

Die Samen wurden zuerst in einen luftverdünnten Raum gebracht und 210 Minuten lang einem Druck von nur 3 mm ausgesetzt. Ein Teil dieses Samens wurde 30 Minuten lang in 10 Proz. Formaldehyd gebracht. Der Samen war darnach zwar steril, aber ging nicht auf. Die Behandlung im verdünnten Raum allein setzte die Keimfähigkeit nicht herab.

Anscheinend läßt die Luft in den Samen die Desinfektionsflüssigkeit nicht eindringen und schützt so die Bakterien.

Wilson, J. K. und Harding, H. A., Eine Methode, um Bakterien von wachsenden Pflanzen abzuhalten.

Der Hauptweg für eine Infektion von Pflanzen bei Versuchen ist die Luft.

Die vielen Methoden, die man vorgeschlagen hat, um eine solche Infektion zu vermeiden, sind sämtlich entweder zu kompliziert oder haben keinen Erfolg.

Harrison und Barlow haben eine Methode angegeben, um Leguminosen auf Agar in Erlenmeyerschen Kolben wachsen zu lassen. Diese Methode läßt sich noch verbessern, wenn man die Pflanzen in sterilen Töpfen züchtet, und sterilen Samen und sterile Erde verwendet. Für einen Gasaustausch kann man sorgen, indem man eine halbzöllige Röhre in den metallenen Deckel des Topfes einlötet, die Röhre mit Watte verstopft und sie mit einem umgekehrten Reagenzröhrchen bedeckt, um die Möglichkeit einer Verunreinigung hintanzuhalten und Austrocknung zu verhüten.

In solchen Töpfen wurde Gras in sterilem Sandboden gesät, dem 10 Proz. Wasser zugesetzt worden waren; es wuchs vier Monate lang darin wenig üppig, ohne daß es nötig gewesen wäre, es zu begießen oder den Topf zu öffnen.

(Die Töpfe mit dem am 13. August 1910 gesäten Gras wurden ausgestellt, seit diesem Zeitpunkt waren die Töpfe nicht geöffnet worden.)

Vortrag, gehalten bei der Eröffnung des 5. internationalen milchwirtschaftlichen Kongresses in Stockholm.

Der jetzige Stand der Käsereifungsfrage.

Von Professor Dr. Orla Jensen, Kopenhagen.

Königliche Hoheit! Hochansehnliche Versammlung!

Da ich die Ehre habe, bei dieser Gelegenheit zu reden, halte ich es am natürlichsten, die viel umstrittene Käsereifungsfrage zu wählen, und dies nicht nur, weil ich mich selber damit beschäftigt habe, sondern auch, weil sie meines Erachtens eine der allerinteressantesten Fragen der ganzen Milchwirtschaft ist.

Was liegt nun eigentlich der Käsefabrikation zugrunde? Einfach der Wunsch, die wertvollsten Bestandteile der Milch in eine haltbare und leicht handliche Form überzuführen. Durch Eindicken der Milch gelangt man zwar an dasselbe Ziel, nur verlangt dieses Verfahren kostspielige Maschinen und hat daher erst in unserer Zeit Bedeutung bekommen. Ursprünglich begnügte man sich damit, die Käsemasse zu salzen und zu trocknen, später hat man indessen gesehen, daß sie sich auch ohne Trocknen halten, ja sogar neue wertvolle Eigenschaften gewinnen konnte, wenn sie nur passend behandelt wurde. Die Käsemasse wird nämlich durch die Milchsäuregärung konserviert, ähnlich wie es mit Ensillage, Rübenschnitteln und vielen anderen Futterstoffen und Nahrungsmitteln geschieht.

Da die Sauermilchkäse heutzutage nur eine untergeordnete Rolle spielen, wollen wir uns hier hauptsächlich mit **den Labkäsen** beschäftigen. Dieselben zerfallen bekanntlich je nach dem Wassergehalt in zwei Haupt-

gruppen, die Hartkäse und die Weichkäse. Ich muß jedoch gleich betonen, daß es nicht der Wassergehalt als solcher, sondern der Gehalt der frischen Käsemasse an freier Säure ist, welcher die Reifungsrichtung bestimmt, und der letzterer braucht keineswegs dem ersteren völlig proportional zu sein. Im Käse wird zwar der ursprüngliche Zuckergehalt und somit auch die Menge der sich bildenden Säure mit dem ursprünglichen Wasser- oder richtiger Molkengehalt steigen, der Gehalt an freier Säure ist aber nicht nur von der gebildeten Säuremenge abhängig, sondern ebenso sehr von der vorhandenen Basenmenge, und es werden dem Käse um so weniger basische Phosphate und mit Parakasein verbundener Kalk einverleibt, je kalkärmer oder saurer die zu verkäsende Milch ist, und je höher der Säuregrad während des KäSENS steigt. In den Hartkäsen reicht die Basenmenge aus, um die Milchsäure fast vollständig zu neutralisieren¹⁾, und die proteolytischen Bakterienenzyme, deren Wirkung von freier Milchsäure meistens aufgehoben, von saueren Phosphaten dagegen nicht gehemmt werden, können somit von Anfang an ihre Tätigkeit entfalten. Ein Hartkäse reift deshalb gleichmäßig durch die ganze Masse. In den Weichkäsen dagegen dauert es immer lange, bis die große Säuremenge neutralisiert wird, und dies kommt selten zustande ohne Beihilfe des an der Oberfläche gebildeten Ammoniaks. Aus diesem Grunde verläuft bei den Weichkäsen die Reifung mehr oder weniger ausgesprochen von außen nach innen, und deshalb wird dieser Prozeß dadurch beschleunigt, daß man den Käsen die größtmögliche Oberfläche gibt.

Über die chemische Seite der Käsureifung werde ich mich kurz fassen. Die Hauptbestandteile der frischen Käsemasse sind ja außer Wasser Milchsäure, Fett und Dicalciumparakaseinat.

Was zunächst den Milchsäure betrifft, so wird er meistens in wenigen Tagen fast gänzlich in Milchsäure umgewandelt. Nur wenn die Käse blähen, entstehen nachweisbare Mengen anderer Gärungsprodukte. Die Milchsäure vereinigt sich, wie gesagt, mit den disponiblen Basen, wodurch milchsaure Kalk, saure Phosphate, Monocalciumparakaseinat, freies Parakasein und bisweilen auch Parakaseinlaktat gebildet werden. Von letzteren Stoffen ist das Parakasein als Globulin (Phosphoglobulin) in Salzwasser löslich, das Parakaseinlaktat als Acidalbuminat dagegen nicht. Da nun die frischen Käse stets gesalzen werden, erklären diese von van Slyke und Hart zuerst beobachteten Tatsachen²⁾ uns vieles über die Konsistenz der Käsemasse in den ersten Reifungsstadien. Bei mäßiger Säuerung wird sie plastisch, bei kräftiger Säuerung dagegen kurz und bröckelig. Der gebildete milchsaure Kalk ist noch kein Endprodukt, sondern ein größerer oder kleinerer Teil desselben geht, wie ich gezeigt habe, in Propionsäuregärung über³⁾, und die hierdurch entwickelte Kohlensäure veranlaßt die normale Lochbildung⁴⁾. Besonders große Löcher bekommt der Emmentalerkäse, weil er nach der Vergärung des Milchsäure eine Zeitlang in einem warmen Raum gehalten wird, und weil seine dichte Masse die Kohlensäure stark zurückhält. In den meisten anderen Käsen entschlüpft die Hauptmenge des entwickelten Gases durch die zwischen den ursprünglichen Bruchteilen befind-

¹⁾ van Dam, W., Rev. Génér. du Lait. VIII. 1910. p. 75.

²⁾ New York Agric. Exp. Stat. Bull. No. 261. 1905.

³⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 401.

⁴⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1906. p. 320. Nach Troili-Petersson sollen auch gewisse glycerinvergärende Aerogenesbakterien sich an der Lochbildung beteiligen können. (Centralbl. f. Bakter. Abt. II. Bd. 24. 1909. p. 333.)

lichen feinen Spalten. Der milchsaure Kalk geht dagegen unter normalen Verhältnissen nie in Buttersäuregärung über, denn nach meinen Untersuchungen kommt in den gewöhnlichen Labkäsen nicht mehr Buttersäure vor, als von der Fettspaltung herrührt¹⁾. Freilich kann man in nachträglich geblähten²⁾ oder in unrein schmeckenden, sehr scharfen Käsen bisweilen eine größere Anzahl Buttersäurebazillen antreffen, was jedoch nur beweist, daß diese Organismen imstande sind, Käsefehler hervorzurufen.

Der zweite Käsebestandteil, das **F e t t**, dessen Menge vor allem den Wert der Käse bedingt, erfährt im Fettkäse während der Reifung meistens keine erhebliche Veränderung. Die Fettspaltungsprodukte sind indessen so durchdringend scharf, daß sie, auch wenn sie nur in geringer Menge vorhanden sind, stets zum Käsearoma beitragen werden, und in den von Schimmelpilzen durchwachsenen Käsen, in welchen die Fettspaltung ziemlich weit geht, überwiegen die Fettspaltungsprodukte alle anderen Geschmacksstoffe.

Der Hauptbestandteil der frischen Käsemasse ist das **P a r a k a s e i n** (oder richtiger seine Kalksalze), und wenn man von der Käsereifung im engeren Sinne spricht, so versteht man darunter lediglich die Proteolyse, welche dieser Stoff erleidet. Es dürfte bei dieser Gelegenheit aller Grund vorhanden sein, des großen schwedischen Gelehrten, **O l o f H a m m a r s t e n**, speziell zu gedenken, denn erst nach seinen Untersuchungen über die Labwirkung wußten wir, was Käse ist. Da ein jedes milchgerinnende Enzym auch proteolytisch wirkt und umgekehrt, so ist die Wirkung des Labes auch nicht mit der Gerinnung der Milch und der Kontraktion des Bruches beendet, sondern sie setzt sich im Käse weiter fort, wodurch lösliche Eiweißstoffe entstehen. Durch erhöhten Labzusatz kann man daher die Käsereifung beschleunigen. Durch Pepsinzusatz gelingt dies dagegen nicht, denn das Pepsin wirkt nicht bei der im Käse vorhandenen niedrigen Wasserstoffionenkonzentration. Hierin liegt ein Beweis gegen die von verschiedener Seite erhobene Behauptung, daß das Kalbschymosin mit dem Pepsin identisch sei. Die neuesten Untersuchungen **H a m m a r s t e n**s haben auch gezeigt, daß das Lab der Wiederkäuer vom Labe der meisten anderen Tiere ganz verschieden ist³⁾, und sofern nun das letztere mit dem Pepsin identisch ist, kann das erstere es folglich unmöglich sein. Nach meinem Dafürhalten ist es auch ganz natürlich, wenn die Wiederkäuer außer dem Pepsin noch ein kaseinlösendes Enzym, das auch bei niedrigeren Säuregraden wirken kann, besitzen, denn die Milch der Wiederkäuer enthält ja verhältnismäßig weit mehr Kasein als die Milch aller anderen Tiere. Setzt man steriler Milch eine geringe Menge durch Filtrieren sterilisierter Lablösung zu, so löst sich nach einiger Zeit etwa $\frac{1}{3}$ des Kaseins, und fügt man noch saure Phosphate hinzu, dann können bis $\frac{3}{4}$ des Kaseins in Lösung gehen. Das Lab selber ist somit ein sehr wichtiger **K ä s e r e i f u n g s f a k t o r**⁴⁾, dessen Wirkung — im Gegensatz zu derjenigen der Bakterien — durch Säure unterstützt wird. Da das Lab besonders Albumosen hervorbringt, und da die wichtigsten Käsereifungsbakterien, wie wir später sehen werden, ausschließlich wenig komplizierte Peptide und Aminosäuren bilden, so verstehen wir, warum die sauren Weichkäse eine große Menge löslicher Eiweißstoffe, aber verhältnismäßig wenig Aminosäuren

¹⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 401.

²⁾ Thöni, Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1906. p. 157

³⁾ Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. 68. 1910. p. 119.

⁴⁾ Jensen, Orla, Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1907. p. 97.

enthalten. Wenn nun auch das Lab keine tiefe Spaltung verursacht, so werden doch durch seine Wirksamkeit — wie bei jeder Hydrolyse von Eiweißstoffen — Aminogruppen frei, und da dieselben Säure binden können, so trägt die Labwirkung auch zum Abstumpfen des Säuregrades der Käsemasse bei und bereitet somit den Boden für die Bakterienenzyme.

Von anderen Enzymen nicht mikrobischen Ursprungs, welche für die Käsereifung von Bedeutung sein können, ist das im Jahre 1897 von *Babcock* und *Russell* entdeckte proteolytische Enzym der Milch, die *Galaktase*, zu erwähnen¹⁾. Neben dem Lab und den Bakterien spielt sie jedoch eine untergeordnete Rolle und sie ist jedenfalls kein notwendiger Reifungsfaktor, denn in Dänemark bereiten wir schon seit längerer Zeit in großem Maßstabe guten Käse aus Milch, die über 80° erhitzt, und in welcher die Galaktase also zerstört worden ist.

Die Hauptrolle bei der Käsereifung spielen die Mikroorganismen, denn ohne ihre Mitwirkung bekommen die Käse nicht das typische Aroma. Bei der *Ducloxschen Tyrothrixtheorie*, die jetzt nur noch geschichtliches Interesse hat, brauche ich vor dieser Versammlung nicht zu verweilen. Nach den Versuchen von *Freudenreich* steht fest: Erstens, daß sich die *Tyrothrix* bakterien — wegen ihrer Säureempfindlichkeit — unter normalen Verhältnissen gar nicht im Käse entwickeln können, und zweitens, daß sie, wenn sie durch vorherige Abtötung der Milchsäurebakterien zur Entwicklung gebracht werden, den Käsen einen widerlichen faulen Geschmack beibringen²⁾. Im Inneren einer Käsemasse findet man fast ausschließlich Milchsäurebakterien, und es müssen daher vornehmlich sie sein, welche die Zersetzung des Käsestoffes verursachen. Von echten Milchsäurebakterien hat man indessen drei Gruppen: die Langstäbchen, die Streptokokken und die Mikrokokken, und *Freudenreich*, der sich besonders mit Emmentalerkäse beschäftigte, fand hauptsächlich die ersteren, und es gelang ihm ferner nachzuweisen, daß dieselben imstande sind, das Kasein der Milch anzugreifen, wenn nur der Säuregrad (mittels Kreide) ebenso stark abgestumpft wird, wie es in den Hartkäsen von selber geschieht³⁾. Hiermit war der Grund zum Verständnis der Käsereifung gelegt.

Nach meinen Untersuchungen wirken die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien mittels eines *Endoerepsins*, welches vom Kaseinmolekül Aminosäuren abschält, ohne Peptone als Zwischenglied zu bilden⁴⁾. Die Aminosäuren in den Hartkäsen verdanken somit diesem Enzym ihre Entstehung⁵⁾. Die Bakterien selber sind dagegen nicht direkt daran beteiligt, denn sie sind, wenn die Hauptmenge der Aminosäuren gebildet wird, meistens tot⁶⁾. Sie gedeihen nämlich nicht gut ohne Zucker, und da der Milchzucker im Hartkäse in wenigen Tagen vergoren ist, so haben diese Reifungserreger auch schon während dieser Zeit ihr Maximum erreicht, ihre Anzahl nimmt von da an langsam ab, und die Autolyse der toten Zellen greift allmählich auf das umgebende Substrat über. Daß die Reifung der Hartkäse wirklich nichts mit der Lebenstätigkeit der Bakterien zu tun hat, son-

¹⁾ Wisconsin Agric. Exp. Stat. Bull. 14, 15 und 19.

²⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1894. p. 207 u. 1901. p. 284.

³⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1897. p. 85.

⁴⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1900. p. 228.

⁵⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1899. p. 169.

⁶⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1906. p. 303.

dern rein enzymatischer Natur ist, geht auch daraus hervor, daß solche Käse ganz gut bei Temperaturen um 0° herum reifen können, wie die amerikanischen Versuche dargetan haben.

Von den Bakterien sind es also die Milchsäurestäbchen, welche für die Käsereifung am wichtigsten sind. Aber natürlicherweise werden auch die Vertreter der beiden anderen Gruppen von Milchsäurebakterien sich an diesem Prozesse beteiligen können, sofern sie nur imstande sind, das Kasein anzugreifen. Mit Endoerepsin sind sie zwar meistens nicht ausgestattet, einige wenige Streptokokken und viele Mikrokokken scheiden dagegen ein proteolytisches Enzym aus, das weniger säureempfindlich als das Erepsin ist, und in seiner Wirkungsweise eine Mittelstellung zwischen dem letzteren Enzym und dem Labstoffe einnimmt. In den Käsen, in welchen dieses Ektotrypsin gebildet wird, muß es auch zum Löslichwerden des Käsestoffes beitragen. Die Mikrokokken werden indessen schnell von den kräftigeren Säurebildnern unterdrückt und können sich deshalb nur in langsam säuernden Käsesorten stark vermehren. Der von mir näher studierte *Micrococcus casei liquefaciens*¹⁾ verleiht ohne Zweifel dem Tilsiterkäse und dem russischen Steppenkäse ihren charakteristischen Geschmack. Nach Gorini spielen auch verwandte Arten eine bedeutende Rolle bei der Reifung des Parmesankäses, einer hoch nachgewärmten Käsesorte, die sich vom Emmentalerkäse vor allem dadurch unterscheidet, daß sie ohne Zusatz von kräftigen Säurebakterien zubereitet wird.

Es erhebt sich nun die Frage, ob denn gar keine anderen Bakterien als die Milchsäurebakterien bei der Reifung (Reifung im engeren Sinne) der Hartkäse in Betracht kommen. Die endgültige Beantwortung dieser Frage ist noch der Zukunft vorbehalten. Für die Beteiligung anaërober Sporenbildner fehlt bis jetzt jeder Beweis, denn es ist noch nie gelungen, eine Vermehrung dieser Bakterien im normalen Labkäse zu konstatieren²⁾. Ich bin mit Herrn Professor Weigmann darin ganz einverstanden, daß der verschiedene Geruch und Geschmack der einzelnen Käsesorten durch spezifische Mikroorganismen verursacht werden³⁾; nur sind diese letzteren nach meiner Ansicht bei den Hartkäsen lediglich bestimmte Arten von Milchsäurebakterien, deren Entwicklung durch die angewandte Herstellungsweise begünstigt worden ist. Und eben der beststudierte Hartkäse, der Emmentalerkäse, ist ein treffliches Beispiel dafür, wie die Fabrikation sich rein empirisch so gestaltet hat, daß dadurch die Oberhand des spezifischen Reifungserregers gesichert wird. Derselbe ist im vorliegenden Falle das Milchsäurestäbchen *Bacterium casei* ε. Zahlreiche Versuche, die auch hier in Schweden bestätigt worden sind, haben gezeigt, daß es diese Bakterie ist, welche die für den Emmentalerkäse charakteristische große Menge Aminosäuren und den damit in Zusammenhang stehenden süßlichen Geschmack bildet. Da *Bacterium casei* ε in den Labmägen vorkommt, wird es sich reichlich vermehren, wenn diese Mägen an der Wärme mit Schotte extrahiert werden. Dies ist nun aber das übliche Labbereitsungsverfahren des Schweizerkäses, und in dieser Weise gelangt also der Reifungserreger in die zu verkäsende Milch⁴⁾. Derselbe entwickelt sich indessen

¹⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 349 u. 1906. p. 535.

²⁾ Burri und Kürsteiner, Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1909. p. 422.

³⁾ Mykologie der Milch. Leipzig 1911.

⁴⁾ Freudenreich u. Orla Jensen, Centralbl. f. Bakter. Abt. II. Bd. 3. 1897. p. 545.

sehr langsam unter 30°, und um sein Wachstum auf Kosten anderer Bakterien zu beschleunigen, muß deshalb warm gekäst, und müssen die Käse auf der Presse warm gehalten werden. Dies erreicht man durch hohes Nachwärmen, durch Herausnehmen der Käsemasse in einem Klumpen aus dem Käsekessel, bevor die Molken abgezogen sind, und vor allem dadurch, daß die Käse sehr groß gemacht werden, so daß sie nur langsam die umgebende Temperatur annehmen. Solche Käse halten während der ersten 24 Stunden eine Temperatur von 50°—35°, und unter diesen Bedingungen wird die Oberherrschaft des *Bacterium casei* ε gesichert.

Es dürfte in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß nicht nur *Bacterium casei* ε, sondern (nach neueren Untersuchungen) auch andere Milchsäurestäbchen normale Magen- und Darmbewohner sind, und wohlgerne nützliche Bewohner, die fäulnishemmend wirken. Andererseits wissen wir, daß die gefürchteten Blähungserreger auch ständige Bewohner des Darmes sind, und daß sie unter Umständen Verdauungsstörungen verursachen können. Die Käsereifung steht somit nicht nur vom chemischen, sondern auch vom bakteriologischen Standpunkte aus in engster Beziehung zum Verdauungsprozeß. Einerseits können wir keinen guten Käse herstellen, wenn die Verdauung der milchliefenden Kühe in Unordnung ist, und andererseits ist guter Käse nicht nur ein wertvolles Nahrungsmittel, sondern auch ein Mittel zur Unterdrückung schädlicher Darmbakterien.

Wir wollen nun zu den **Weichkäsen** übergehen. Sieht man von den wenigen Sorten ab, welche von Schimmelpilzen durchwachsen sind, und die den Übergang zu den Hartkäsen bilden, zerfallen die Weichkäse in zwei Hauptgruppen, die *Schmierkäse*, bei welchen die Schimmelpilze durch tägliches Schmieren der Oberfläche unterdrückt werden, und die *Schimmelkäse*, bei welchen die Entwicklung dieser Pilze begünstigt wird. Bei den bekanntesten Schmierkäsen (den nach Limburger Art bereiteten) wird nach meinen Untersuchungen die starke Ammoniakbildung an der Oberfläche durch eine Symbiose von verflüssigenden Kokken mit dem nicht verflüssigenden *Bacterium casei limburgensis* verursacht¹⁾. Bei den Schimmelkäsen dagegen kommt, wie bereits *D u c l a u x* gezeigt hat, die Neutralisierung der Milchsäure durch eine Metabiose von bestimmten Schimmelpilzen mit verschiedenen Bakterien zustande. Nach *M a z é*²⁾ bilden die hier tätigen Bakterien keine Sporen und verflüssigen die Gelatine nicht, sondern greifen wie *Bacterium casei limburgensis* vorzugsweise die Eiweißzersetzung an. Der ganze Unterschied zwischen Schmierkäsen und Schimmelkäsen ist also, daß bei den ersteren die Schimmelpilze durch verflüssigende Kokken ersetzt sind, und wir können deshalb die Reifung beider Käsegruppen von einem gemeinsamen Gesichtspunkt aus betrachten.

Wie erwähnt, ist bei den Weichkäsen die proteolytische Wirkung des Labes von größerer Bedeutung als bei den Hartkäsen. Die Hauptreifung geht indessen von der Oberfläche aus, indem nicht nur die Ektoenzyme der Mikrokokken beziehungsweise der Schimmelpilze, sondern auch die an der Oberfläche gebildeten Basen langsam hineindiffundieren. Das Parakasein wird hierdurch in leicht lösliche Albumosen und Ammoniaksalze um-

¹⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 389. Das in der Rinde der Hartkäse gebildete Ammoniak entsteht ganz in derselben Weise wie bei den Schmierkäsen, auch dort kommen Kokken und *Bacterium casei limburgensis* reichlich vor.

²⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 24. 1910.

gewandelt¹⁾). Von dem Momente an, wo die Käsemasse einigermaßen neutral geworden ist, können die im Inneren vorhandenen Milchsäurestäbchen anfangen, in ähnlicher Weise zu wirken wie in den Hartkäsen. Sie wirken aber langsam, und da die Käse meistens kurz nach diesem Zeitpunkt gegessen werden, kommt es im Inneren der Weichkäse selten zur Bildung größerer Mengen von Aminosäuren. Wie die Endoenzyme der Milchsäurestäbchen, so können auch die Endoenzyme der Schimmelpilze eine tiefergehende Zersetzung des Kaseins hervorrufen. Diese letzteren Enzyme kommen aber nur zur Geltung im Inneren solcher Käse, welche von Schimmelpilzen durchwachsen sind. So verdankt z. B. die große Menge Aminosäuren im Roquefortkäse den Endoenzymen des *Penicillium roqueforti* ihre Entstehung.

Wir haben nur noch **die Sauermilchkäse** zu besprechen. Von solchen gibt es sowohl Hartkäse als Weichkäse, und von den letzteren sowohl Schmierkäse als Schimmelkäse, ja sogar Schimmelkäse, die — wie der Roquefortkäse — von Pilzen ganz durchwachsen sind, nämlich der alte norwegische Käse. Das größte Interesse bieten die Sauermilchhartkäse, weil sie meistens hoch erhitzt werden und ihre Reifung durchmachen, bevor sie geformt werden. Durch das hohe Erhitzen geschieht dasselbe wie bei der Pasteurisierung der Milch, die Entwicklung der Sporenbildner wird auf Kosten der Milchsäurebakterien begünstigt und solche Käsemasse geht deshalb auch, wie ich es bezüglich des Schabziegers gezeigt habe, in lebhaft Buttersäuregärung über²⁾). Die Verhältnisse sind also hier ganz andere als beim Labkäse, aber übrigens wenig aufgeklärt.

Zum Schlusse möchte ich ein paar Worte über die **p r a k t i s c h e B e d e u t u n g** der hier behandelten Frage sagen. Durch die Entwicklung der Milchwirtschaft von Hausindustrie zum Großbetrieb ist die Milch durchschnittlich schlechter, und es ist somit auch schwieriger geworden, guten Käse zu machen. Nichtsdestoweniger begnügen sich die Käsefabrikanten heutzutage nicht mehr mit der Herstellung der Käsesorte, welche in der betreffenden Gegend heimisch ist, und von welcher man deshalb annehmen kann, daß sie gerade den dortigen Milchbakterien ihre spezifischen Eigenschaften zu verdanken hat, sondern sie fabrizieren — in der Regel in denselben Lokalen — mehrere verschiedene Sorten. Wenn nun diese Käse sich nicht bloß durch die Form unterscheiden, sondern auch das typische Gefüge und Aroma erhalten sollen, so muß der Käser seinen Beruf viel gründlicher verstehen, als es früher nötig war, und sicher wird er erst dann arbeiten können, wenn er imstande ist, der zu verkäsenden Milch die richtigen Bakterien in genügender Menge zuzusetzen. Von diesem Ziel sind wir indessen noch weit entfernt. Nur zu den französischen Weichkäsen werden Reinkulturen der spezifischen Schimmelpilze benutzt, und bei der Herstellung des Emmentalerkäses wird das Lab mit dem *Bacterium casei* ε geimpft, sonst ist die Zubereitung aller anderen Käse noch rein empirisch. Von den meisten dieser Käsesorten wissen wir nämlich nur, daß es hauptsächlich die Milchsäurebakterien sind, die die Reifung hervorrufen, welche Arten aber ist noch unbekannt, und dies aus dem guten Grunde, weil wir die spezifischen Eigenschaften der einzelnen

¹⁾ Das vorher durch Säure entkalkte Parakasein verbindet sich leicht mit Ammoniak. Da gegen 60 Proz. der löslichen N-Substanzen eines reifen Limburgerkäses durch Neutralisierung mit Essigsäure ausfallen, ist es wahrscheinlich, daß diese zum Teil Ammoniumkaseinate sind.

²⁾ Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 395 u. 1906. p. 312.

Milchsäurebakterien überhaupt nicht kennen. Das eingehende Studium dieser zahlreichen Bakteriengruppe ist indessen eine notwendige Bedingung für die weitere Entwicklung der Milchwirtschaft, und deshalb auch ein wichtiges Thema für einen späteren milchwirtschaftlichen Kongreß.

Landwirtsch. Sektion des 11. Kongresses polnischer Ärzte und Naturforscher in Krakau, Nachm.-Sitz. am 19. Juli 1911.

Bodenbakteriologische Beobachtungen als Mittel zur Beurteilung von Böden.

Von **Bronislaw Niklewski.**

Bodenbakteriologische Studien werden schon seit mehr als 30 Jahren betrieben, seit der Zeit, da die methodischen Schwierigkeiten soweit überwunden waren, daß mikrobiologische Studien mit Erfolg unternommen werden konnten. Den Errungenschaften dieses jungen Wissenszweiges verdanken wir eine wesentliche Vertiefung der Bodenlehre, die sich nicht bloß auf die Erforschung der physikalisch-chemischen Verhältnisse des Bodens beschränken darf, sondern auch die einschlägigen mikrobiologischen Fragen umfassen muß; denn der Boden ist nicht ein totes Wasser- und Nährsalzreservoir, sondern birgt in sich eine Fülle verschiedener Mikroorganismen, mit denen die Kulturpflanzen zu leben gezwungen sind. Doch sind wir noch weit davon entfernt, einen lückenlosen Einblick in das Zusammenwirken der Lebensprozesse des Bodens zu gewinnen; in vielen Fällen wissen wir nicht einmal, welche Rolle die bereits erforschten Prozesse in der Ackererde spielen. Wir sind eben in den Anfangsstudien, der Nachwelt bleibt es vorbehalten, auf diesen Fundamenten weiterzubauen; unser Streben möge darauf abzielen, diese Fundamente möglichst solid zu schaffen, anstatt jetzt schon nach weitgehenden Erfolgen zu jagen, die noch nicht hinreichend gestützt, ihr Ziel verfehlen müssen. Die kühnen Versuche *Bottomleys*, nicht nur ein wirksames Impfmateriel für Leguminosen, sondern auch für andere Kulturpflanzen, Gerste, Hafer, Rüben etc. zu gewinnen, werden zur Zeit wohl mit Recht als phantastisches Vorhaben angesehen.

Doch in anderer Richtung hat man vielfache Versuche gemacht, der Bodenbakteriologie praktische Erfolge abzurufen. Seit etwa 10 Jahren ist man eifrig damit beschäftigt, bodenbakteriologische Methoden auszuarbeiten, die als diagnostisches Mittel für die Beurteilung von Böden oder zur Charakterisierung des Zustandes eines Bodens dienen sollen.

Die Grundidee dieser Methode lag darin, daß gewisse Mikroorganismen des Bodens in ähnlicher Weise auf äußere Faktoren reagieren wie die Kulturpflanzen, daß ferner die Entwicklung der Pflanzen bedingt wird durch das Gedeihen gewisser Mikroorganismen. Zunächst wurde die Zahl der Keime im Boden in Betracht gezogen, worüber schon von Seiten der Hygieniker Beobachtungen vorlagen (*Koch, Beumer, Reimers, Eberbach, Fülles, Fränkel*¹⁾). Wohl sind Unterschiede in der Zahl der Keime in verschiedenen oder verschieden behandelten Böden bemerkbar, jedoch waren die Resultate ohne praktische Bedeutung. Ebenso waren ohne praktischen Wert, wenn auch interessant, die Beobachtungen *Carons, Hiltners* und *Störmers*. Diese Autoren hatten bei der Zählung der auf festem Nährboden gewachsenen Keime auf das Verhältnis verschiedener

¹⁾ *Lafar*, Mykologie. Bd. 3. p. 438.

Gruppen von Organismen (Gelatine verflüssigende, nicht verflüssigende, Streptotrix) aufmerksam gemacht und mit dem Zustande des Bodens in diesem Verhältnisse gewisse Änderungen wahrgenommen. Einen größeren diagnostischen Wert versprachen die von Hiltner und Störmer eingeführten Zählungen der Gruppen von Mikroorganismen, die einen unmittelbaren Einfluß auf die Entwicklung der Pflanzen zu haben schienen. Die Zählungen wurden mittels der Verdünnungsmethode in solchen Nährlösungen vorgenommen, die nur eine bestimmte Gruppe von Organismen zur Entwicklung gelangen ließen. Andere Forscher (Remy, Ehrenberg, Löhnis u. a.) haben ebenfalls den Versuch gemacht, besondere Gruppen von Organismen (Nitrifikations-, Denitrifikations-, Stickstoffassimilierende, Harnstoff zersetzende, Pepton zersetzende Organismen) zur Beurteilung der Böden heranzuziehen, jedoch nicht durch Feststellung der Zahl der Keime, sondern durch Bestimmung ihrer Virulenz; und zwar wurde dies in der Weise ausgeführt, daß eine bestimmte Menge Boden in die entsprechenden Nährlösungen geimpft wurde und die erfolgten Umsetzungen nach gewisser Zeit durch chemische Methoden festgestellt wurden. Es wurde dabei vorausgesetzt, daß bei nicht allzu langer Versuchsdauer desto weitgehendere Umsetzungen eintraten, je keimreicher und tüchtiger das Impfmateriel war, so daß also aus dem Grade der Umsetzungen Rückschlüsse auf das Impfmateriel gemacht werden konnten. Natürlich darf das zugesetzte Impfmateriel keinen wesentlichen Einfluß durch seine chemische Beschaffenheit auf die Kulturen ausüben, da sonst zwei Unbekannte in den Versuch hineingebracht werden. Auf die mannigfachen Abänderungen dieser Methode will ich hier nicht näher eingehen.

Natürlich wird sich diese Methode besonders für die Bestimmung solcher Organismen eignen, welche sich durch langsame Entwicklung auszeichnen. Also können die prototrophen Nitrifikationsorganismen, welche ihre organische Substanz aus dem Kohlenstoff der Kohlensäure aufbauen müssen, und sich daher langsam entwickeln, in ihrem Entwicklungszustand durch eine solche Methode genauer bestimmt werden als irgendwelche heterotrophen Organismen. Es ist daher leicht erklärlich, daß in den letzten Jahren Vogel¹⁾ an der Hand der Nitrifikation des Hornmehls sehr hübsche Resultate erzielt hat. „Es wird“, wie der Autor selbst sagt, „der gesamte in Ammoniak umgewandelte Stickstoff bestimmt und außerdem der einer raschen Nitrifikation unterliegende Anteil des gebildeten Ammoniaks. Dadurch wird das Verfahren erst wertvoll, denn wie die Zahlenwerte erkennen lassen, bestehen im allgemeinen in der Intensität der Hornmehlaufschließung an sich keine erheblichen Abweichungen, dagegen treten solche in sehr typischer Weise bei der weiteren Nitrifikation des gebildeten Ammoniaks auf“. Zunächst stellt Vogel einen erheblichen Einfluß der Jahreszeit auf die Nitrifikationskraft des Bodens fest. Außerdem übt aber eine günstige Wirkung, ein Zusatz von Ton- und Moorerde zu dem Sandboden auf die Nitrifikationskraft aus. Es zeigt sich, daß die Nitrifikationskraft in enger Correlation zu den Ernteerträgen der verschiedenen Parzellen stand, ein Resultat von anscheinend hoher, praktischer Bedeutung. Der Autor schloß daraus, daß:

- „1. Die Größe der Produktionskraft der untersuchten Böden in direktem Verhältnis steht zur Größe der nitrifizierenden Energie und daß
2. die angewandte Methode diese wichtigen Beziehungen mit wünschenswerter Deutlichkeit zum Ausdruck bringt.“

¹⁾ Mitteil. des Kaiser Wilhelms Instituts für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. 2. Heft 4. p. 388.

Nun fragt es sich, ob diese Resultate eine weitgehende praktische Bedeutung haben, ob sie verallgemeinert werden dürfen. Der im Minimum befindliche Vegetationsfaktor des sandigen Versuchsfeldes des Bromberger Institutes, wo die natürlichen Niederschläge recht gering sind, dürfte die Feuchtigkeit sein. Aus der in demselben Hefte veröffentlichten Arbeit Gerlach's sehen wir, daß die Niederschläge für Bromberg und Umgebung im Versuchsjahr 1906 von April bis September 218 mm betrugen. Die durchschnittliche Niederschlagsmenge während dieser 6 Monate beträgt 307 mm. Durch künstliche Bewässerung wurden die Ernteerträge stark gehoben. So wird der günstige Einfluß des Zusatzes von Ton- oder Moorboden in den Versuchen Vogels in der Erhöhung der Wasserkapazität des Bodens zu suchen sein, was nicht nur die Ernteerträge günstig beeinflußt, sondern auch auf die Nitrifikationsorganismen, die nach Winogradsky und Omelianski das Austrocknen schlecht vertragen, keimerhaltend wirkt. Merkwürdigerweise äußert sich der Autor allerdings bei Besprechung der Jahresschwankung der Nitrifikationswerte dahin (p. 414): „ohne Zweifel wird die nitrifizierende Kraft auch von anderen Faktoren, besonders von der Bodenfeuchtigkeit beeinflußt wie die Löhnschen Befunde zeigen, ich kann diesen Einflüssen jedoch keine allzugroße Bedeutung zuerkennen.“ Doch bei dem Vergleich der Nitrifikationskraft der verschiedenen Parzellen wird der Wassergehalt des Bodens ausschlaggebend sein. Wenn auch der Autor darauf nicht näher eingeht, so weist doch der Wassergehalt der entnommenen Bodenproben auf die Richtigkeit der Annahme hin.

Der Wassergehalt der Bodenproben in Versuchen Vogels betrug

1908	15a	12a	11a I	14	11a II	13
September	10,4	12,2	7,2	8,4	7,2	6,8
Oktober	11,8	10,2	7,8	8,0	7,8	7,0
November	14,2	15,8	11,2	11,9	10,2	9,6
1909						
Januar	14,28	12,08	10,2	11,28	10,4	8,68
April	12,50	12,50	9,6	10,60	8,8	8,40
Mai	11,96	11,86	8,08	9,70	8,58	7,66
Juni	4,56	5,82	2,66	2,94	2,60	2,20
September	9,20	9,30	6,36	7,60	6,06	5,76

Gerade die Parzellen 15a, 12a wiesen die stärkste Nitrifikation auf, 11aI bedeutend geringer, 14, 11aII, 13 zeigten die geringste Nitrifikation.

Ähnlich in einem anderen Versuche auf dem Streifen IV haben die Parzellen 16 und 20 einen bedeutenden Abfall der Nitrifikationsenergie gezeigt im Vergleich zu Parzelle 17, 18, 19. Der Wassergehalt der entnommenen Proben von Parzelle 16 und 20 betrug 10,36 bzw. 11,66, wogegen die übrigen 3 Parzellen nahezu 15% Wasser aufwiesen. Die Parallelität zwischen Nitrifikationskraft und Wassergehalt des Bodens scheint also in den Versuchen Vogels recht deutlich zum Ausdruck zu kommen. In diesem Falle wurden mit Hilfe der Nitrifikationsmethode im wesentlichen wohl die Wasserverhältnisse gemessen. Aus diesem Grunde erscheint es mir fragwürdig, ob der Schluß des Autors, daß die Produktionskraft der Nitrifikationsenergie proportional ist, verallgemeinert werden kann.

Grundsätzlich scheint es mir nicht zulässig zu sein, Böden nach der Produktionskraft zu ordnen. Die Ernteergebnisse sind nicht allein von dem Nährstoffkapital des Bodens, sondern auch vom Klima abhängig, welches auf die Produktivität des Bodens in verschiedener Weise wirken kann, wie es ja tatsächlich auch den praktischen Landwirten wohl bekannt ist, daß bald der eine Boden, bald der andere höhere Erträge bringt, je nach den klima-

tischen Verhältnissen des Jahres. Das Wesen der modernen Bodenkunde beruht ja darauf, die physikalisch-chemischen Eigenschaften eines Bodens zu bestimmen, und nicht etwa Boden nach der Produktivität anzuordnen, eine Rangordnung, welche nur das Katasteramt, allerdings aus triftigen Gründen, aufzustellen bemüht sein kann.

Gegen eine Überschätzung bodenbakteriologischer Methoden bei der Beurteilung von Böden wendet sich R e m y¹⁾ in seiner jüngsten Arbeit. Er stellt bodenbakteriologische Beobachtungen anderen Methoden der Bodenkunde an die Seite. Nun fragt es sich aber, wie die gemessenen Werte der Nitrifikations-, Denitrifikations-, stickstoffassimilierenden, Harnstoff zersetzenden Kraft bei der Charakterisierung der Böden verwendet werden sollen. Die bakteriologischen Zustände sind ja selbst nicht als primäre Eigenschaften des Bodens zu betrachten, sondern als das Produkt der verschiedenartigsten Faktoren anzusehen. Zumal welchen Wert haben für die Beurteilung des Bodens Beobachtungen, die wir an solchen Organismen machen, deren Rolle in den biologischen Prozessen des Bodens noch ganz unaufgeklärt ist (z. B. *Azotobakter*). Im günstigsten Falle werden wir durch mikrobiologische Beobachtungen auf gewisse Eigenschaften der Böden aufmerksam gemacht, die zurzeit noch nach anderen Methoden untersucht werden müssen. In der Tat zeigte E h r e n b e r g, daß ein nach R e m y's mikrobiologischen Beobachtungen als anormal bezeichneter Boden einen außerordentlichen Kalkmangel litt²⁾. V o g e l's Versuche mit Nitrifikationswerten wiesen vorzüglich auf Feuchtigkeitsunterschiede der Böden. In vielen „mikrobiologischen Studien“ scheint mir die Aktivität gewisser Prozesse besonders auf den Durchlüftungsverhältnissen des Bodens zu beruhen.

Der bakteriologische Zustand eines Bodens an sich ist also eine Eigenschaft, die von den verschiedenartigsten Faktoren abhängen kann. Die Bestimmung einer solchen komplexen Größe kann also für das Studium des Bodens wenig Vorteil bieten. Der Wert mikrobiologischer Methoden für die Beurteilung von Böden scheint vielmehr darin zu beruhen, daß gewisse physikalische oder chemische Eigenschaften der Böden auf diesem Wege exakter studiert werden können, als es mit den Methoden der Physik bzw. Chemie möglich ist. Sache der Forschung wird es sein, in jedem Falle zu entscheiden, ob den physikalisch-chemischen oder den biologischen Methoden der Vorzug zu geben ist. Letztere können den besonderen Vorteil bieten, daß sie besser das Verhalten des pflanzlichen Organismus dem Boden gegenüber werden erklären können. Denn leider all zu oft macht der Biologe die Wahrnehmung, daß die physikalischen oder chemischen Methoden der Reaktionsfähigkeit des Organismus gegenüber nicht gleichkommen.

Wir treffen z. B. bei der Bestimmung des Nährstoffkapitals des Bodens auf eminente Schwierigkeiten. Nur ein geringer Teil kann von dem pflanzlichen Organismus ausgenützt werden, der bei weitem größte Teil ist ganz inaktiv und kommt für die nächsten Vegetationsperioden nicht in Betracht. Wenn z. B. ein Boden 0,150 % N enthält, so kann er schon im 6. Jahre ohne N-Düngung erheblichen N-mangel aufweisen, und doch verarmt die Ackerkrume durch eine normale Getreideernte um ca. 0,001 % N, eine Menge, welche nach den bisherigen Methoden ganz unbestimmbar ist. Selbst die 10-fache

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 29. p. 36.

²⁾ Landw. Jabrb. Bd. 33. 1904. p. 1.

Menge kann kaum mit hinlänglicher Sicherheit bestimmt werden, — und der Fehler der Probeentnahme! Nach dem bisherigen Analysengang muß die ganze Menge Stickstoff aufgeschlossen und bestimmt werden, und mit Rücksicht auf hinlängliche Exaktheit können mit den uns zur Verfügung stehenden Laboratoriumsmitteln nur 50, höchstens 100 g Erde verbrannt werden. So ist es denn erklärlich, daß wir das Stickstoffbedürfnis des Bodens absolut nicht bestimmen können. Doch noch empfindlicher erscheinen uns die engen Grenzen der chemischen Analyse bei der Forschung der Nährstoffwandlungen des Bodens. So kommt es, daß wir jetzt z. B. über die Rolle der Stickstoffassimilation, über das Wesen der Brache, über die Denitrifikationsvorgänge im Boden recht wenig unterrichtet sind. Zwar ist es üblich, bei der Bestimmung der übrigen Nährstoffe Extraktionen mit gewissen Lösungsmitteln (z. B. 25 % Salzsäure) herzustellen, doch jeder Agrikulturchemiker weiß aus eigener Praxis, daß auf diesem Wege das Düngebedürfnis der Böden nicht bestimmt werden kann. Es herrscht durchaus keine Parallelität zwischen dem Löslichkeitsvermögen der Salzsäure und demjenigen des pflanzlichen Organismus. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, die ich in einer ausführlicheren Mitteilung zu geben beabsichtige, möge eine Versuchsreihe von Kali und Phosphorsäurebestimmungen obige Behauptung illustrieren. Die Analysen wurden in Erdextrakten (25 % HCl) von Parzellen gemacht, die zu einem Düngungsversuch gehören, welcher seit 1902 von Prof. Dr. K. M i e z y Ń s k i geführt wird. Die Parzellen zeigten erst 1909 eine starke Reaktionsfähigkeit auf gewisse Nährstoffe. Gedüngt wurde im Frühjahr 1909

	1909		1910		% P ₂ O ₅	% K ₂ O
	Ertrag der Kartoffelknollen		Weizenерtrag			
		% Stärke	Gesamt kg	Körner	I.ob.Schicht20cm II.unt.Schicht30-50cm	
Ohne Kalk	119,0	19,0	19,0	5,70	I 0,040	I 0,045
Ohne Stickstoff	106,3	20,5	21,0	5,85	I 0,047	I 0,028
					II 0,050	II 0,048
Ohne Düngung	67,75	18,4	13,25	3,37	I 0,055	I 0,043
					II 0,041	II 0,043
Volle Mineraldüngung	131,25	20,4	21,00	5,70	I 0,059	I 0,045
					II 0,049	II 0,046
Ohne Kali	59,30	17,0	15,75	3,70	I 0,067	I 0,045
					II 0,058	II 0,043
Ohne Phosphorsäure	120,2	20,5	19,75	5,05	I 0,041	I 0,042
					II 0,057	II 0,040
Stallmistdüngung	143,0	20,6	25,25	6,55	I 0,084	I 0,024
					II 0,066	II 0,005

Auffallend ist es, daß Parzellen, welche den Pflanzen gegenüber einen starken Mangel an gewissen Nährstoffen aufweisen, in der Analyse der betreffenden Böden sich gar nicht unterscheiden. Besonders merkwürdig ist der niedrige Kaligehalt der Salzsäureextrakte der mit Stallmist gedüngten Parzelle, die doch den Pflanzen gegenüber keinen Kalimangel aufwies. Die Ursache dieser Erscheinung hoffe ich noch aufzuklären. Die Zahlen zeigen aber zur Genüge, worauf es hier ankam, daß die bis jetzt übliche chemische Analyse des Bodens uns kein wahres Bild von der Düngerbedürftigkeit geben kann. Der Wert der Analysenzahlen ist ja noch schwieriger zu beurteilen, wenn es sich darum handelt, verschiedenartige Böden auf ihre Nährkraft hin zu beurteilen.

Aus diesem Grunde hat es Mitscherlich¹⁾ unternommen, Bodenextrakte mittels kohlensäuregesättigten Wassers unter konstanter Temperatur herzustellen. Es wird also nur das von der Kohlensäure lösbar Material bestimmt; da die Kohlensäure das einzige bis jetzt nachgewiesene Wurzelexkret ist, so scheint die chemische Analyse des Bodens auf richtige Grundlagen gestellt zu sein. In der Tat ist in der letzten Mitteilung Mitscherlich's und seiner Mitarbeiter²⁾ ein erheblicher Erfolg gezeigt worden. Es wurde gezeigt, daß während der Brache eine Lösung des Stickstoffs erfolgt. Wahrscheinlich wird mit Mitscherlich's Methode noch eine Reihe anderer wissenschaftlicher Fragen erledigt werden. Fraglich erscheint es mir jedoch, ob wir mit dieser Methode die Düngerbedürftigkeit des Bodens werden aufdecken können. Die Pflanze nimmt mit ihren Wurzeln nicht allein das Material, welches gerade löslich ist, sondern im Kampfe mit anderen Organismen erringt sie sich auch die Stoffe, welche während der Vegetationsperiode löslich werden, sie nimmt allnählich auch solche Stoffe auf, welche bei den Umsetzungen der Lebensprozesse von einem unlöslichen Zustande in einen anderen übergehen, nur temporär lösbar sind. So wäre es denkbar, daß ein humusreicher, tätiger Boden eine hohe Fruchtbarkeit besitzt, doch aber wenig kohlensäurelösliche Substanzen hat. Ich habe bisher mit den Apparaten Mitscherlich's noch nicht gearbeitet, es ist möglich, daß jene Erwägungen nicht besonders ins Gewicht fallen, doch der Vergleich einiger Zahlen aus Mitscherlich's Mitteilung erweckte in mir gewisse Bedenken:

	B : W	P ₂ O ₅	N ₂ O	N
Sandboden	1 : 10	0,01059	0,0092	0,00250
	1 : 25	0,02145	0,0138	0,00288
Humusreicher Gartenboden	1 : 10	0,00815	0,0106	0,00287
	1 : 25	0,01978	0,0193	0,00422

Leider ist der wirtschaftliche Wert dieser beiden Böden nicht näher charakterisiert, doch dürfte wohl der humusreiche Gartenboden vielleicht als erheblich nährstoffreicher als der Sandboden anzusehen sein, was in den Zahlenwerten nicht gerade zum Ausdruck kommt, ja der Gartenboden scheint sogar phosphorsäureärmer zu sein als der Sandboden. (Das wäre allerdings nicht unmöglich.

Das Verhalten des Bodens der Pflanze gegenüber, welches während einer gewissen Periode dauert, können wir unmöglich durch die Feststellung eines einzigen Zustandes des Bodens bestimmen.

Es scheint mir vielmehr, daß für die Lösung gewisser Fragen der Chemie des Bodens die chemische Analyse durch mikrobiologische Methoden mit periodischer Versuchsdauer wird ersetzt werden müssen. Diese dürften am besten geeignet sein, das Verhalten des pflanzlichen Organismus dem Boden gegenüber nachzuahmen. Butkewitsch³⁾ hat die Wirksamkeit gewisser Nährstoffe des Bodens in der Weise bestimmt, daß er die Wachstums-Intensität von *Aspergillus niger* auf Nährlösungen feststellte, welchen statt des betreffenden Nährstoffes eine bestimmte Menge Erde zugesetzt wurde. Ähnlich hat Dzierzbicki Azotobakterienkulturen als Phosphorsäurequelle verschiedene Böden zugesetzt und die Wachstumsintensität, die vom Gehalt an tätiger Phosphorsäure abhing, an der Hand von Stickstoffbestimmungen gemessen. In der Tat wurden auf diese Weise bemerkenswerte

¹⁾ Landw. Jahrb. Bd. 36. p. 309.

²⁾ Landw. Jahrb. Bd. 39. p. 344.

³⁾ Nach Löhnis Landw. Bakt. p. 525.

Unterschiede bei verschiedenen Böden festgestellt, wie dies die Tabelle illustriert.

Stickstoffzunahmen während der 7-tägigen Versuchsdauer in mg.

Herkunft der der Lösung zugesetzten Erde	Verhalten einer Phosphorsäure- düngung gegenüber	100 ccm Lösung sterilisiert und mit 10 g Erde und Reinkultur von <i>Azotobacter</i> geimpft		100 ccm Lösung samt 10 g Erde sterilisiert und mit Reinkultur von <i>Azotobacter</i> geimpft	
		P_2O_5		P_2O_5	
		mit	ohne	mit	ohne
Versuchsfeld- parzelle mit Volldüngung	reagiert nicht auf Phosphorsäure	8,85 7,59	8,22 4,89		2,85 2,85
Siersza	reagiert mäßig auf Phosphorsäure	5,97 4,99	5,48 3,87	4,29 3,87	4,08 12,69 16,33
Zakopane Mala laka Untergrund	reagieren sehr stark auf Phosphorsäure	5,01	1,23 3,75	2,49 5,85 4,59	0,54 2,70 1,21
Zakopane bei der Ziegelei		4,76 2,80	3,78 1,82 1,52	1,67 15,68 14,42	0,35 0,42 1,12

Diesen Versuchen dürfte das eine entgegen zu halten sein, daß unter den obwaltenden Kulturbedingungen nicht so viel Nährmaterial mobilisiert werden kann, wie in einem in natürlicher Lage unter guten Vegetationsbedingungen befindlichem Boden.

Daher schlage ich Arbeitsmethoden vor, welche sich eng an die von Stoklasa,¹⁾ Hesselink van Suchtelen²⁾ und Christensen³⁾ veröffentlichten Versuche anschließen. Bis jetzt habe ich seit November 1910 13 Versuche angestellt, die einen orientierenden Charakter haben. Wie weit sich die Methode als brauchbar erweist, wird die Zukunft lehren. Möge es mir aber gestattet sein, die Grundlagen dieser Methode hier kurz zu erörtern. Es werden 8 kg Erde mit einer gewissen Menge Zellulose in Form von gemalener und gesiebter Pappe vermischt und in eine Flasche gebracht, Durch diese Flasche wird durch einen seitlichen Tubus am Boden kohlensäurefreie Luft durchgeleitet und beim Austreten nach dem Trocknen die Kohlensäure aufgefangen und gewogen. Außer der Zellulose wird noch 1 g K_2HPO_4 , 1 g $MgSO_4$, 8 g $CaCO_3$ und $(NH_4)_2SO_4$ zugesetzt. Gewöhnlich wurden 4 Apparate zugleich in Gang gesetzt. Es muß mit großer Sorgfalt auf gleichmäßige Behandlung, Feuchtigkeit usw. geachtet werden, soweit Vergleichswerte erzielt werden sollen. Es wurden täglich 10 l Luft durchgesaugt (ohne einen Wasserstoffstrom dazwischen zu schalten). In den bisherigen Versuchen wurde nur der Stickstoffzusatz alteriert.

Ohne an dieser Stelle auf die Einzelheiten der Arbeit einzugehen, will ich die wenigen erwähnenswerten Tatsachen, welche ich konstatieren konnte, wiedergeben. Bei sorgfältiger Arbeitsweise sind die individuellen Fehler nicht erheblich, so daß sie die Versuchsergebnisse nicht wesentlich beeinträchtigen.

¹⁾ Bull. de l'acad. des sc. de Cracovie. 1910. p. 21.

²⁾ Stoklasa u. Ernest, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 14. p. 723.

³⁾ F. H. Hesselink van Suchtelen, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. p. 45.

⁴⁾ H. R. Christensen, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. p. 449.

Die Zellulosezersetzung ist in hohem Maße vom Stickstoffvorrat des Bodens abhängig. Schon bei Zusatz von $1,25\text{‰}$ Zellulose zu einem Lößboden mit $0,150\%$ N macht sich der Stickstoffmangel wesentlich bemerkbar. Bei $15,0\text{‰}$ Zellulose übersteigt die Kohlensäureproduktion mit geeignetem Stickstoffzusatz um das mehrfache die Produktion ohne diesen Zusatz. Je größer der Zellulosezusatz, desto stärker die Kohlensäureproduktion aber bis zu einem gewissem Grade. Bei Zusatz von 15‰ Zellulosesubstanz war im Gegenteil die Kohlensäureproduktion anfangs geringer als bei Zusatz von 10‰ . Bei Stickstoffmangel fällt die Kurve und bleibt auf einem bestimmten Niveau stehen, indem wohl wahrscheinlich die Zellulosezersetzung auf Kosten desselben Stickstoffs erfolgt; die organischen Stickstoffsubstanzen werden immer wieder zersetzt. Nach mehreren Tagen steigt wieder die Kurve, besonders wenn die Durchlüftung für einige Zeit unterbrochen wird. Das Ansteigen erkläre ich mir damit, daß bei großem Stickstoffmangel sich allmählich auf Kosten der organischen Substanzen Stickstoff assimilierende Mikroorganismen entwickeln, die bei mangelnder Durchlüftung mit ihren stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukten die Zellulosezersetzung unterhalten. Das späte Eintreten dieser Erscheinung dürfte dafür sprechen, daß die Stickstoffassimilierenden Organismen im natürlichen Boden eine untergeordnete Rolle spielen. (Allein diese Frage bedarf einer näheren Untersuchung und dürfte an der Hand dieser Methode

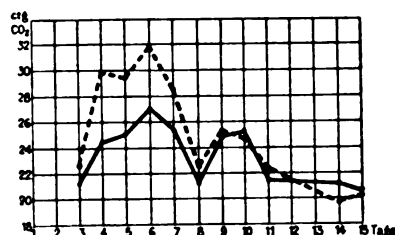


Fig. I.

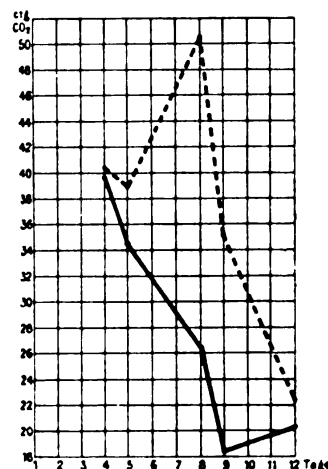


Fig. II.

vielleicht zu entscheiden sein. Der Vergleich verschiedener Bodenproben dürfte hier zum Ziele führen.) Der natürliche Vorrat wirksamen Stickstoffes einer Lößerde genügt nicht zur Verarbeitung von $1,25\text{‰}$ zugesetzter Zellulosesubstanz. Der optimale Stickstoffgehalt war bei Zusatz von $1\text{ g} = 0,125\text{‰}$ Ammoniumsulfat. Dadurch wurde die Kohlensäureproduktion gehoben, wie aus Fig. I ersichtlich ist. Ein größerer Zusatz von Stickstoff wirkte schädlich, erst nach Aufbrauch der disponiblen Stickstoffmengen machte sich der günstige Einfluß bemerkbar. Die Fig. II illustriert die CO_2 -produktion in einem Sandboden mit $0,015\%$ Stickstoffgehalt und $1,25\text{‰}$ Zellulosezusatz. Die Zellulosezersetzung ist anfangs bedeutend intensiver als in der Lößerde, was auf bessere Durchlüftung zurückzuführen ist. Die Kurve fällt steil ab infolge des schnellen Stickstoffaufbrauches. Dagegen bei optimalem Stickstoffgehalt, bei Zusatz von 2 g Ammoniumsulfat, steigt die Kurve noch bedeutend höher. Ein Zusatz von 3 g Ammoniumsulfat wirkte schädlich. Nach 8 Tagen treffen aber beide Kurven zusammen. Aus dem Verhältnis der überschüssigen Kohlensäureproduktion bei Stickstoffzusatz (2 g Ammoniumsulfat im Sand, 1 g im Lößboden) zur gesamten Kohlensäureproduktion ohne diesen, kann man auf den ursprünglichen wirksamen Gehalt an Stickstoff im Boden

schließen. Bei dem Lößboden würden wir auf diese Weise einen Gehalt von 0,040% (im Verhältnis zu 0,150% Gesamtstickstoff) wirksamen Stickstoffs feststellen, während im Sandboden der gesamte Stickstoffgehalt 0,015% als wirksamer Stickstoff angesehen werden müßte, ein Resultat, welches vielleicht Bedeutung bei Beurteilung von Böden haben dürfte. Noch manche anderen Beobachtungen habe ich bei diesen Versuchen gemacht, die ich noch weiter verfolgen will.

Über den wirklichen Wert dieser Methode habe ich mir noch kein endgültiges Urteil bilden können. Vielleicht wird es mir auf diesem Wege gelingen, manche Fragen zu lösen, z. B. die Umwandlungen der Stickstoffsubstanzen bei Stallmistdüngung im Boden. Hier habe ich nur meinen Gedankengang über den Wert der bakteriologischen Methoden für die Bodenbeurteilung entwickelt. Als großen Erfolg würde ich es bezeichnen, wenn dieser Vortrag dazu verhelfen sollte, wirklich fruchtbare bakteriologische Methoden für die Bodenkunde auszuarbeiten.¹⁾

(An einer lebhaften Diskussion dieses Vortrags nahmen Teil die Herren Hofrat Prof. Dr. Stoklasa - Prag, Dr. A. Dzierzbicki - Kalisz, Prof. Miklaszewski - Warschau, Prof. Staniczki - Czernichow. Prof. Dr. Stoklasa wies besonders auf Grund eigener Versuche darauf hin, daß die Kohlensäureproduktion des Bodens der empfindlichste Indikator biochemischer Umsetzungen ist. Dieser Ansicht konnte sich der Ref. auf Grund eigener Beobachtungen anschließen).

Dublany, 21. Juli 1911.

Fig. I. Lößboden, gestrichelte Linie Kohlensäureproduktion bei Zusatz von 1 g Ammoniumsulfat.

Ausgezogene Linie Kohlensäureproduktion ohne Stickstoffzusatz

Fig. II. Sandboden, gestrichelte Linie Kohlensäureproduktion bei Zusatz von 2 g Ammoniumsulfat.

Ausgezogene Linie Kohlensäureproduktion ohne Stickstoffzusatz.

Referate.

Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. 2. vermehrte Aufl. [16. Fortsetz.] Jena (G. Fischer) 1911.

Die jetzt erschienene 19. Lieferung gibt die Möglichkeit, nach langer Unterbrechung über das 13. Kapitel, welches C. Wehmer zum Verfasser hat, zu berichten. Hier wird die durch Pilzenzyme bewirkte Stärkeverzuckerung im Brennereigewerbe und die Mykologie der Rumbrennerei und der Arrakbereitung ausführlich besprochen. Zunächst erfahren wir, daß in den Produktionsländern der Reisbranntwein ein unentbehrliches Genußmittel ist und daß selbst die ärmsten Bewohner monatlich 2½—3 Liter, bessergestellte bis zu 10 Liter verbrauchen. Die Kunst der Gärung ist eine sehr alte, und neben zuckerhaltigen Pflanzensäften kommen stärkereiche Rohstoffe in Betracht, aber auch Abfälle anderer Fabrikationen, so die Rohzuckermelasse, spielen eine Rolle. Die Vergärung der Reisstärke setzt eine vorhergehende Verzuckerung voraus und dieses Verfahren ist besonders mykologisch interessant,

¹⁾ Die Versuche wurden ausgeführt im Laboratorium des Instituts für Pflanzenbau der Akademie Dublany. Dem Leiter des Instituts Prof. Dr. K. Miczyński bin ich zu tiefem Danke verpflichtet für die Bereitwilligkeit, mit der er meine Arbeit in jeder Weise förderte.

weil hier die durch Pilze bewirkte Stärkeverzuckerung zur Anwendung gelangt. Ohne daß die Chinesen Kenntnis über die Pilze selbst haben, auch nicht wissen, wozu sie dienen, sind alle Ostasiaten sehr geschickte Pilzzüchter. Die meist wild aufgefangenen Mucorineen, deren Leistungsfähigkeit meist derjenigen der Aspergilleen gleichkommt, werden nicht etwa durch Isolieren in Kulturgläsern, sondern durch Verbacken in Reismehlkuchen in handliche Formen gebracht. Aber nicht nur in Japan, sondern auch in Java und vielleicht noch in anderen Gebieten, ist man mit der europäischen Malzverzuckerung bekannt. — Übrigens führen nicht nur die aus Reis und Melasse, sondern auch die aus zuckerhaltigen Pflanzensäften erhaltenen Trinkbranntweine den gemeinsamen Namen Arrak. Der chinesische Reisbranntwein ist das Destillat des chinesischen Reisweines und als chinesische Hefe bezeichnet man aus grobem oder feinem Reismehl dargestellte pfeffernußähnliche, weißgraue, aromatisch oder schwach schimmelig riechende, ungefähr talergroße brüchige Kuchen, welche eine Unzahl Organismen enthalten und meist mit einer bräunlichen Schimmelhaut bedeckt sind. Ihre Wirksamkeit verdanken sie der Anwesenheit von diastasebildenden Mucorineen und Alkoholhefen verschiedener Art; auch enthalten sie massenhaft fremde Bakterien. — Wichtige Einzelheiten erklärende Abbildungen führen zur Darstellung des japanischen Arraks in § 81 über, woselbst sich sehr interessante Mitteilungen über die Etymologie von Arrak finden. Auch hier tragen Abbildungen von Rohmaterialien und mikroskopischen Präparaten zum Verständnis bei. Im nächsten Paragraphen folgen Awamori, japanischer Reisbranntwein und Batatenbranntwein. Dem Takamine-Verfahren, der in letzter Zeit mehrfach genannten Taka-Diastase und der Aspergillus-Verzuckerung im Okzident ist § 83 gewidmet. Die Versuche, den Reisaspergillus auch in anderen Ländern technisch zu verwenden, haben scheinbar zu keinem Erfolge geführt, wenigstens sind die Versuche der Verwendung als Malzersatz im Brennereigewerbe und auch zur Diastasebereitung wieder abgebrochen. Das Takamine-Verfahren, nach seinem japanischen Urheber so genannt, besteht in Benutzung eines Auszuges von auf Weizenkleie herangezüchteten Aspergillus Oryzae zur Verzuckerung gedämpften Maises und die auf möglichst billigem Material erzielte Reinkultur enthält dann in der Lösung Diastase. Die dem Erfinder Takamine patentierte Methode wurde in Illinois in einer großen Anlage verwertet, welche aus Mais Spiritus gewinnen wollte, jedoch trotz der theoretisch äußerst günstig erscheinenden Methode mußte der Betrieb als unrentabel eingestellt werden. — Die Diastase des Aspergill. Oryzae (Eurotin, Takadiastase) ist schon im 4. Bande S. 240 kurz erwähnt und Koschelt bezeichnet das seiner Meinung nach der Malzdiastase sehr ähnliche Enzym als Eurotin und läßt es bei + 45—50° C Stärke in Dextrin und Maltose verwandeln. In dem Koji wurde die Anwesenheit erheblicher Dextrosemengen ermittelt, später wurden in ihm aber neben Dextrose auch Maltose gefunden; weitere Einzelheiten folgen noch hierüber, doch sieht man jetzt das Koji-Enzym als ein Gemenge mehrerer Enzyme an. Auch von der Takadiastase weiß man jetzt, daß sie ein Gemenge mehrerer Enzyme ist. — Über Aspergillusdiastase finden sich übrigens viele unrichtige Anschauungen, so sagt Green, daß man noch nicht bestimmt wisse, ob der Reis oder der Pilz die Quelle des Enzyms sei, welcher Punkt doch nie zweifelhaft sein konnte, da bedauerlicherweise Green die zahlreichen früheren Nachweise der diastatischen Wirkung des Reisschimmels vollständig übersehen hatte.

Die in § 84 und 85 folgenden *Mucorineen-Verzuckerung* im Okzident (das Amyloseverfahren) und die westindische *Rumbrennerei* seien den Interessenten zum Studium empfohlen. Bezüglich der bei der Rumbgärung tätigen Hefen ist anzuführen, daß hierbei zwar besondere Hefen einwirken, aber Herzfeld macht geltend, daß etwaige Verschiedenheiten der Gärungserreger dabei keine so wichtige Rolle spielen, wie anderweitige in der Art des Gärungsmaterials und der Beschaffenheit der von früheren Destillationen zurückgebliebenen Schlampe, welche *Dunder* genannt wird. liegende Momente. — Die Frage, ob der bei der Rum- und Arrakgärung tätigen Flora ein mitbestimmender Einfluß auf den Charakter der Getränke zukommt, ist auch heute anscheinend noch nicht völlig geklärt.

Im 5. Abschnitt folgt die *Mykologie der Weinbereitung*, einschließlich *Beerenwein* und *Met* und das 14. Kapitel, welches *Joh. Behrens* zum Verfasser hat, bringt die Pilzflora auf Trauben und Obstfrüchten, woselbst im § 86 die auf den Rohmaterialien der Weinbereitung vorkommenden Keime angeführt werden. Wir ersehen hier, daß man bis vor verhältnismäßig kurzer Zeit bei der Bereitung alkoholischer Getränke aus süßen Früchten sich mit dem Zerkleinern derselben begnügen mußte und Fruchtbrei oder den ausgepreßten Saft einfach der Gärung überließ. In der späteren Zeit aber und besonders seit *Pasteurs* Untersuchungen rechnet man bei Bereitung der Obst- und Traubenweine und auch der Fruchtbranntweine mit der Tatsache, daß die süßen Früchte im Naturzustande immer Keime von Erregern der alkoholischen Gärung, also Hefen enthalten und solche hierdurch in die Luft gelangen, wie sie aber auch schon vor der Fruchtbildung im Boden enthalten sind. Die ersten Untersuchungen über die auf süßen Früchten vorkommenden Organismenkeime sind wohl *Hoffmann* zu verdanken, dem sich dann eine große Reihe von Forschern anschloß, so daß wir jetzt wohl ein erschöpfendes Bild über die Flora (s. p. 344—348) besitzen. Diese verschiedenartigen Organismen verdanken jedenfalls dem Zufall ihr Vorkommen, indem die Keime entweder vom Boden her oder von Wundstellen der Früchte, von abgestorbenen Pflanzenstielen usw. durch Wind und Regen, auch durch Insekten und andere Zufälligkeiten auf die Früchte gebracht wurden.

Im folgenden § ist die Abhängigkeit der Zusammensetzung der Pilzflora von äußeren Einflüssen eingehend geschildert und sei auf einige Keimzählungen verwiesen, die besonders bei verletzten Früchten infolge reichlicher Ernährung enorme Mengen an Hefe und hefeähnlichen Pilzen, *Dematium pullulans*, rotem Sproßpilz, Schimmel und anderen Fadenpilzen ergeben. An aufgesprungenen Früchten, Beeren, vermehren sich die hefeähnlichen Pilze meist mehr als die echten Hefen. Daß überreife und abgefallene am Boden liegende Beeren infolge ihrer Verschmutzung mit Erde besonders reich an Keimen, auch an Schädlingskeimen, sein werden, ist natürlich. Auch Form und Oberflächenbeschaffenheit der Früchte und die Art des Fruchtstandes haben Einfluß auf die Menge von Keimen. Daß auch die Verschiedenheit der Witterungsverhältnisse und somit in trockenen Jahren der keimtötenden Wirkung des Lichtes eine wichtige Rolle zukommt, ist gleichfalls durch Beobachtungen begründet und im Jahre 1904 wurde nach *Laborde* im französischen Weingebiet durch große Regenmengen ein Abwaschen der Hefenkeime und hierdurch ein Verzögern des Gärungseintritts sehr bemerkbar. Dann haben sehr genaue Untersu-

chungen Müllers - Thurgau die Keimzahlunterschiede der dem Boden am nächsten und der am höchsten hängenden Trauben ermittelt (S. 350) und ergeben, daß die tieferen Lagen etwa das fünffache mehr als die oben befindlichen Trauben an Keimen enthalten. Einen sehr günstigen Einfluß auf die Entwicklung der Hefen und der anderen Epiphytenkeime hat die Besprengung mit der bekannten Kupferbrühe, welche die durch *Pero-nospora viticola* hervorgerufene Blattfallkrankheit verhindert und durch das dichte Laubwerk die keimtötenden Lichtstrahlen abhält; bewiesen ist, daß diese Bespritzung keine verzögernde Einwirkung auf das rechtzeitige Eintreten der Gärung ausübt. — Ob eine qualitative Verbesserung der Fruchtflorea durch die Bedeckung mit Blättern hervorgerufen wird, ist noch nicht zu behaupten, da hierüber kritische Untersuchungen fehlen; wahrscheinlich ist auch die Natur des Bodens nicht einflußlos auf die Flora der Früchte, da auf stark gedüngtem und in alter Kultur befindlichen Boden wohl andere Organismen vorkommen als auf magerem und keimarmen Boden. Einzelne diesbezügliche Mitteilungen sind auf Seite 351—352 gegeben. — das Verhalten der verschiedenen Organismen nach dem Maischen der Früchte folgt in § 88. Welche Beeinflussungen hier stattfinden, möge u. a. dadurch bewiesen werden, daß z. B. durch den Alkoholgehalt der gärenden Flüssigkeit, wenn er erst einmal 3 Proz. beträgt, eine Vermehrung von *Saccharomyces apiculatus* nicht mehr stattfindet und von da ab die weitere Alkoholbildung im gärenden Wein allein durch Weinhaefen bewerkstelligt wird. Zum Schluß dieses Kapitels wird der Einfluß der verschiedenen Organismen auf den Verlauf der Gärung und auf die Güte der Gärungsprodukte geschildert. Für den Fachmann sind in diesen Ausführungen sehr viele beachtenswerte Fingerzeige enthalten.

Das gleichfalls von Joh. Behrens verfaßte 15. Kapitel macht uns mit den Fäulniserscheinungen an Trauben und anderen Rohmaterialien der Weinbereitung bekannt und im § 90 werden zunächst diese Erscheinungen an süßen Früchten beschrieben. Dann folgen im nächsten § Einzelheiten über den Traubenschimmel — *Botrytis cinerea* — und die Rohfäule der Weintrauben. Der für den Weinproduzenten so wichtigen Edelfäule ist in § 92 eine sehr eingehende Abhandlung gewidmet und sehr gute Abbildungen machen uns die Entwicklung dieses Prozesses klar. Eine scharfe Trennung der Edelfäule von der Rohfäule ist nicht leicht durchführbar, schon weil der Begriff „Reife“ nicht scharf zu fassen und daher schwankend ist. Das Wichtigste ist die Möglichkeit, daß infolge des Pilzbefalles das Produkt der Traube, der Wein, besser wird, welches nur dann eintreten kann, wenn die Beeren zur Zeit des Befalles durch den Pilz bereits vollreif sind und einen hohen Zuckergehalt haben. Bei Rotweintrauben kommt Edelfäule nicht vor, weil der rote Farbstoff durch jede Fäule zerstört wird. — Die vielen wichtigen Einzelheiten müssen, wie der Schlußparagraph über weitere Fäulniserscheinungen an Trauben, von den Interessenten im Original erschen werden.

Über die Anwendung von Reinhefen in der Mostgärung berichtet Kroe mer im 19. Kapitel und beginnt in § 94 mit der Verbesserung der Mostgärung ohne Reinhefe durch Reinigung des Maischgutes und Erhöhung seines Säuregehaltes. Geschichtlich interessant ist die Mitteilung, daß das älteste Mittel zur Erzielung einer reintonigen Gärung, die Beseitigung der angefaulten Trauben aus dem Gärmaterial, schon bei den alten Römern üblich war; sie sonderten schon die mangelhaften und kranken Beeren

von den gesunden und verarbeiteten die ersteren zu einem geringeren Nachwein. Bei uns in Deutschland und ganz besonders am Rhein (Johannisberg) wurde Mitte des XVIII. Jahrhunderts die Edelfäule zuerst zur Erzielung wertvollster Weine eingeführt, als man erkannt hatte, daß die Beeren gewisser weißer Trauben im sorgfältig ausgelesenen Zustande viel feinere Qualitäten lieferten. Auch bei den Obst- und Beerenweinen werden die Früchte zur Erzielung besserer Qualität sorgfältig ausgelesen. Im weiteren wird hier auf die Einwirkung chemischer Zusätze verwiesen, die eingehender noch in einem späteren § besprochen werden. — Es folgen dann die Verbesserungen der Most-Gärung ohne Reihefe durch Luftabschluß Temperatur-Regelung und Vermaischen, welchen sich dann Einzelheiten über Gewinnung, Prüfung, Aufbewahrung, Züchtung und Versand der Heferassen in § 93 anschließen. Erst nach H a n s e n s Verfahren der Hefereinzucht, gelang es M a r x 1888 eine Anzahl französischer Weinhefen reinzuzüchten und auf ihre Eigenschaften zu prüfen. Nach vielen und langen Versuchen von privater Seite kam es der Aufnahme des Reinzuchtverfahrens sehr zu statten, daß in G e i s e n h e i m, W ä d e n s w i l, K l o s t e r n e u b u r g a. a. O. staatliche Hefereinzuchtanstalten errichtet wurden und damit die völlige Sicherheit für die Brauchbarkeit der abgegebenen Rassen geboten wurde. Trotzdem aber findet bei der Hauptgärung in manchen Gegenden, wie z. B. gerade am Rhein dies Verfahren nur geringe Anwendung. Es folgen dann Angaben über das Ausgangsmaterial für die Gewinnung reiner Weinhefen, die Prüfung der Heferassen, wobei im Vordergrund die physiologischen Merkmale stehen. Schließlich werden noch Einzelheiten über Aufbewahrung, Apparate und Methoden angegeben und bezüglich des Versandes ersehen wir, daß in den Staatsinstituten nur die Bodensatzhefe unter den erforderlichen bakteriologischen Kausalen verabfolgt wird. Übergehend zu der Anwendung von Reihafen bei der Hauptgärung der Traubenweine wird hervorgehoben, daß sie bei richtiger Auswahl die Qualität des Weines beträchtlich zu verbessern vermögen. Einesteils vermögen die Reihafen die schädlichen Säuerungs-erreger zu unterdrücken und so die Entstehung nachteiliger Gärungsprodukte zu verhüten, dann aber vermögen sie auch den Wert der Weine unmittelbar durch die Produkte ihrer eigenen Tätigkeit zu erhöhen. Ganz besonders bei Hochgewächsen sind die Reihafen an der Entstehung der Blume durch Bildung von Gärungsbuketten, vielleicht auch durch Enzymwirkungen, mit beteiligt. Bezüglich der Aussaatmengen, des Zeitpunktes des Hefezusatzes, und der bei Zusatz reiner Hefen sich ergebenden Vorteile sei auf die Seiten 403—404 verwiesen.

Der § 98 führt die Verbesserung des Reinzuchtverfahrens durch Pasteurisieren, Filtrieren, Zentrifugieren und Schwefeln des Mostes an und im nächsten § werden die Anwendungen von Reihafen bei der Herstellung von Apfel-, Birn-, Beerenwein und Most besprochen. Ganz besonders günstig soll sich die Verwendung von Reihafen bei Obst- und Beerenweindarstellung gestalten, da diese Früchte eine weit ungünstiger zusammengesetzte Epiphytenflora aufweisen als die Trauben. Auch in diesem Paragraphen finden sich sehr exakte Mitteilungen über die Technik der Reingärung, die Gewinnung der Obstweinhefen, der Vergärung von Brennobst, d. h. von Kirschen, Pflaumen, Mirabellen u. s. w. Bei Darstellung von Met hat man gleichfalls durch das Reinzuchtverfahren ganz bedeutende Verbesserungen erzielt.

Über den angefangenen § 100 kann erst nach Erscheinen der nächsten Lieferung berichtet werden.

R u l l m a n n (München).

Löhnis, F., Landwirtschaftlich-bakteriologisches Praktikum. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1911.

Mit der vorliegenden Schrift will **Löhnis** eine spezielle Anleitung zur Ausführung landwirtschaftlich-bakteriologischer Untersuchungen auf den Gebieten der Futtermittel-, Molkerei-, Dünger- und Bodenbakteriologie geben, und er erreicht diese Absicht in vollkommenster Weise. Die angegebenen Methoden und Vorschriften sind mit größter Sachkenntnis ausgewählt; es fanden nur solche Berücksichtigung, deren Brauchbarkeit bei der bakteriologischen Laboratoriumsarbeit als sicher erwiesen gelten kann.

Bei Besprechung der erforderlichen Apparate und Instrumente ist Rücksicht auf Billigkeit und eventuelle Selbstanfertigung genommen. Verf. hat hier aus eigener Erfahrung erprobte und bewährte Mittel empfohlen, mit welchen in einfachster Weise der gewünschte Zweck erreicht werden kann. Auch die zahlreichen, nur dem geübten Praktiker bekannten Einzelheiten und Kunstgriffe, die das Arbeiten im Laboratorium oft erleichtern, sind erwähnt und zum Teil durch sehr instruktive Zeichnungen erläutert.

Das Werk wird jedem, der sich mit den behandelten Gebieten zu beschäftigen hat, ein willkommener Ratgeber sein, und sich ohne Zweifel bei agrikulturbakteriologischen Untersuchungen bald als ebenso unentbehrlich erweisen, wie das bekannte **Abelsche** Taschenbuch in den Laboratorien der medizinischen Bakteriologie. **Vogel** (Bromberg).

Bersch, Wilhelm, Hefen, Schimmelpilze und Bakterien.

Eine Darstellung der Lebensbedingungen, Eigenschaften und Verwendung der technisch wichtigen Mikroorganismen in der Praxis. VIII + 462 pp. [A. Hartlebens chemisch-technische Bibliothek. Bd. 333.] Wien und Leipzig (A. Hartleben) 1910.

Dem Verf. war es darum zu tun, einen gründlichen Leitfaden für den Praktiker zu schreiben, auf daß dessen Studien und Erfahrungen auf einer wissenschaftlich-theoretischen Grundlage aufgebaut werden könnten und auf daß es dem Gärungspraktiker möglich werde, größere Spezialwerke mit Erfolg benutzen zu können. Nach einer Einleitung wendet sich Verf. den Theorien der Gärung zu, dann den Gärungsorganismen, der Chemie der Gärung, der alkoholischen Milchsäure-, Essigsäure-, Buttersäure-Gärung. Es folgen die Abschnitte: Reinkultur der Gärungsorganismen (Mikroskop, Arbeitsweisen, Apparate, Methoden der Reinkulturen, Reinzucht der Hefe im großen, die natürliche Reinzucht), Fabrikation der Preßhefe, Melasse, Stärkezusatz zur Preßhefe, Hefe und Gärung in der Bierbrauerei, in der Weinbereitung, die Hefe und Schlempe als Futtermittel, Hefe als Heilmittel, Untersuchungsmethoden der Hefe. Dann Hilfstabellen (Vergleichstabellen der Thermometergrade, der Grade des **Bollingschen** Saccharometers und des **Bauméschen** Araeometers bei Berücksichtigung der Zuckermengen, die spezifischen Gewichte der Mischung von Alkohol und Wasser und die entsprechenden Volums- und Gewichtsprozente Alkohol bei 15,5° C. Ein Literaturverzeichnis und ein alphabetisches Sachregister.

In der Arbeit konnte Verf. viele Notizen aus dem Nachlasse seines Vaters, des Autors der „Gärungschemie für Praktiker“, benutzen.

Matouschek (Wien).

International Catalogue of Scientific Literature. Botany. Vol. 7. (986 pp.), 8. (949 pp.) London 1910. (Preis 37 sh 6 p der Band.)

Es ist erfreulich, daß der International Catalogue in schneller Folge weiter erscheint. Die beiden Bände umfassen die Literatur vom November 1907 bis November 1909, d. h. fast die beiden Jahre 1908—1909. Eine scharfe Abgrenzung der Zeiträume ist nicht möglich, da die Büros der einzelnen Länder nicht ganz gleichmäßig arbeiten und deshalb oft früher erschienene Arbeiten erst später aufgenommen werden können.

Mit dem 7. Jahrgang wurde eine tief einschneidende Änderung bei den Aufzählungen in den Spezialkapiteln vorgenommen, indem nicht mehr die vollen Titel zitiert werden, sondern nur noch Stichworte. Man kann dann leicht den vollen Titel der Arbeit und das Zitat im Autorenverzeichnis nachsehen. Im Interesse der Beschränkung des Umfanges war diese Beschränkung gewiß notwendig, man kann aber nicht leugnen, daß die Benutzbarkeit dadurch erschwert worden ist. Man wird aber die kleine Unbequemlichkeit mit in den Kauf nehmen müssen, da ja die Zusammenstellung so außerordentlich viele andere gute Seiten hat, daß man darüber hinwegsehen kann. Über die Vollständigkeit der Aufzählungen hat Ref. bereits in der letzten Besprechung in dieser Zeitschrift nähere Angaben im Vergleich zu Justs Jahresbericht gemacht, so daß ein Zurückkommen darauf sich erübrigt.

Dagegen möchte Ref. die Gelegenheit benutzen, um auf die Ungleichmäßigkeit der Arbeiten der Büros der einzelnen Länder etwas einzugehen. Im allgemeinen gilt ja bei dieser Bibliographie der Grundsatz, daß die Titel schnell und vollständig gesammelt werden sollen. Wenn wir uns die Verwirklichung dieser Regel ansehen, so muß man zugestehen, daß Deutschland und Rußland die einzigen Länder sind, welche diesen Grundsatz möglichst vollständig durchführen. Schon bei England hapert es mit der Schnelligkeit, da viele Titel aus kleinen Gesellschaftsschriften mehrere Jahre nachzuschleppen pflegen. Dasselbe ist mit Frankreich der Fall, wo bereits eine gewisse Unvollständigkeit einsetzt. Bei Italien kann man ähnliches feststellen. Alle übrigen Länder leiden an mehr oder weniger großen Unvollständigkeiten, indem wichtige landwirtschaftliche, gärtnerische und forstliche Zeitschriften nicht ausgezogen werden. Dabei wäre es wohl Ländern wie Österreich, Dänemark, Spanien, Australien usw. wirklich nicht schwer, sich die vollständige Übersicht über die periodischen Erscheinungen zu verschaffen. Ganz unvollständig ist Amerika. Nach welchen Grundsätzen die Veröffentlichungen der Agricultural Experiment Stations und vieler Akademieschriften ausgezogen werden, hat Ref. trotz vieler Bemühungen nicht zu entscheiden vermocht. Man wird schwerlich fehlgehen, wenn man die in Nordamerika erscheinende Literatur etwa auf das Zehnfache der angegebenen Titel schätzt.

Ferner verdient ein Übelstand gerügt zu werden, der früher bei der vollständigen Aufführung der Titel im allgemeinen Teil und in den speziellen Kapiteln nicht weiter lästig fiel. Das sind nämlich Druckfehler bei den Autoren, Zahlen der Zitate usw. Wenn jetzt im allgemeinen Kapitel sich ein solcher Druckfehler einschleicht, dann läßt sich keine Kontrolle ausüben. Vielleicht kann man dadurch, daß die Korrekturen nicht bloß in England, sondern auch noch in anderen Büros gelesen werden, eine Änderung herbeiführen.

Möge das internationale Unternehmen stetige weitere Fortschritte machen. Die kleinen Mängel, die ja immer vorhanden sein werden, wird die Zukunft leicht beseitigen und beschränken können. Dann wird der botanische Teil sich als immer unentbehrlicher für unsere Wissenschaft herausstellen.

L i n d a u.

Herzog, O. und Ripke, O., **Herzog, O., Ripke, O. und Saladin, O. und Herzog, O. und Saladin, O.,** Über das Verhalten einiger Pilze zu organischen Säuren. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 73. 1911. p. 284; 290; 302).

In mehreren Abhandlungen wird das Verhalten einiger Pilze gegen organische Säuren und Aminosäuren besprochen und mitgeteilt, wieviel Säure von *Mycoderma cerevisiae*, *Monilia candida* und *Oidium lactis* nach 1½ Monaten verzehrt wird, wenn sie auf Nährlösungen wachsen, welche 0,5—3 gr C. Ameisen-, Essig-, Propion-, Bernstein-, Milch-, Apfel-, Glykol-, Trauben- und Zitronensäure enthalten. *Oidium lactis* zersetzt auch in durch Aceton oder Äther abgetötetem Zustande Milchsäure, nicht aber Bernsteinsäure und Mandelsäure. Ein Abtöten durch flüssige Luft wurde nicht erzielt. Durch Aceton getötetes *Mycoderma cerevisiae* verzehrt Milchsäure, Mandelsäure, d-Weinsäure, l-Weinsäure und Bernsteinsäure, wobei wahrscheinlich, da die Bildung von Kohlensäure auf Zusatz der Säure abnimmt, keine einfache Oxydation, sondern eine andere Umwandlung der Säuren stattfindet. Wenn zu *Penicillium*-Kulturen Leucin gegeben wird, so wird reichlich Kohlensäure entwickelt, und zwar mehr, als durch gänzliche Verbrennung des Leucins entstehen kann. Es wird dies als Reizerscheinung oder Reaktionskoppelung erklärt. Die Kohlensäureproduktion ist größer, wenn die durch Aceton getötete Pilzmasse zu in Wasser gelöstem Leucin gebracht, als wenn die Pilzmasse mit der Leucinlösung versetzt wird.

Emmerling (Hermisdorf.)

Mencl, Em., Nachträge zu den Kernstrukturen und Kernäquivalenten bei Bakterien. (Arch. f. Protistenk. XXI. 1911. p. 255—262, m. Taf.)

Verf. hat bei *Micrococcus butyricus* und Sarcinen, also unzweifelhaften Bakterien, Kernstruktur festgestellt. Gegen seine Anschauung sind mehrere Einwände erhoben worden, so z. B. daß der vermeintliche Kern die charakteristische Farbreaktion nicht zeigt und daß er auf die Verdauungsflüssigkeiten anders reagiert, als die Kerne der übrigen Pflanzen. Hiergegen wendet Verf. ein, daß unsere mikrochemischen Methoden noch sehr unsichere Resultate geben. Als Beispiel führt er die Giemsa färbung an. Es bleibt mitunter in Blutpräparaten bei vollkommener Neutralität des Ausstriches aus unbekannten Gründen die rote Eosinfärbung der Erythrocyten ganz aus. Ferner zeigte bereits Němec, daß die peptische und tryptische Verdaulichkeit beziehungsweise Unverdaulichkeit der Nukleine usw. nicht immer zutrifft. Nach Ansicht des Verf. kann die Kernfrage nur auf rein morphologischem Wege gelöst werden.

Verf. bildet diesmal vier Bakterien ab, die aus dem Wasser oder Gartenhumus stammen, aber leider nicht bestimmt worden sind. Nach den Figuren zu urteilen, sind deutliche Kerne vorhanden, die vermutlich in Teilung begriffen sind.

W. Herter (Tegel.)

Schöne, Albert, Was wissen wir über die Wärmeerzeugung durch Mikroorganismen bei der Selbsterhitzung (Selbstentzündung) aufgehäufter organischer Massen, speziell von Produkten der Zuckerindustrie? (Die Deutsch. Zuckerind. Jg. 36. 1911. p. 608 und 628).

Verf. bespricht die vorliegende Frage zuerst in allgemeiner Weise, verweist auf die Temperaturerhöhungen bei der Aufbewahrung des Stallmistes,

dann auf diejenigen Erscheinungen, die in der chemischen Industrie, bei der Futtereinsäuerung, Fermentation des Tabaks, bei der Lagerung feuchter Häute, bei der Selbstentzündung des Heus etc. zu beobachten sind, gibt weiter ein Bild, wie die Selbstentzündung bei den genannten Produkten zu erklären ist, um sodann auf Grund der vorliegenden Literatur Fälle von Selbsterwärmung von Zucker oder zuckerhaltigen Massen hervorzuheben. Da nun über die Selbstentzündung letztgenannter Produkte verschiedene Ansichten obwalten, so hat sich Verf. veranlaßt gefunden, den in einer deutschen Rohrzuckerfabrik eingetretenen Fall einer Selbstentzündung (es wurde hier ein Rohrzuckerlager von ungefähr 20 000 Zentnern unter explosionsartigen Erscheinungen auseinander gesprengt) näher zu studieren und den Ursachen dieses Ereignisses nachzuforschen. Der zersetzte Zucker war dunkel gefärbt und der Farbstoff wurde auffallender Weise (gewöhnlich ist das Gegenteil der Fall) in der wässrigen Lösung außerordentlich leicht durch wenig Bleiessig gefällt. Bei der bakteriologischen Prüfung des „verbrannten“ und des „an der Grenze entnommenen“ Zuckers zeigte sich auf Zucker-Agar-Platten nach 15 Stunden bei 50° C im Brutschrank ein charakteristisches Wachstum. Auf Platten, die den „Grenzzucker“ enthielten, hatte sich neben einigen überwuchernden Kolonien von Stäbchenbakterien eine große Anzahl typischer Kolonien eines *Actinomyces* (Strahlenpilz) gebildet, während die Platten mit dem braunen Zucker nur Kolonien von Stäbchenbakterien enthielten. Auf über 70° C im Brutschrank gehaltenen Platten trat kein Wachstum ein. Die *Actinomyces*-Arten bilden eine Art Formenübergang von Mycelpilzen zu echten Bakterien; eine große Anzahl von ihnen ist zu den thermophilen zu rechnen, da sie wiederholt bei Selbstentzündungsprozessen gefunden wurden. In Zuckerfabrikprodukten hat sie Verf. bisher nur selten und dann auch nur vereinzelt gefunden. Einen Beweis dafür, daß diese *Actinomyces* bei der vorliegenden Zuckerselbsterhitzung mitgewirkt haben, geben die Untersuchungen des Verfassers wohl nicht, doch darf nach der Analogie anderer Vorgänge die Wahrscheinlichkeit dafür ausgesprochen werden. Die vorgefundenen Stäbchenbakterien erwiesen sich als Angehörige der *Semiclostridium*-Gruppe. Auch diese Bakterien sind zu den thermophilen zu rechnen; sie sind in Zuckerfabrikprodukten außerordentlich verbreitet und machen sich auch häufig genug durch die Bildung von Gallertklumpen, welche oft zu Verwechslungen mit *Leuconostoc*-Massen Veranlassung geben, bemerkbar. Findet *Semiclostridium* in einem Zuckerhaufen günstige Entwicklungsbedingungen, so kann es sich in ganz außerordentlicher Weise äußern. Diese Wirkung kann sich zeigen durch Veränderung des Zuckers (Inversion, Schleimbildung, Säurebildung, Veränderung der Farbe) und als solche sichtbar in Erscheinung treten und ferner, falls feste Lagerung und Ausdecken stattgefunden hat, durch Anhäufung großer Gasmassen charakterisieren, die sich schließlich gewaltsam einen Weg bahnen müssen. Das oben erwähnte eigenartige Verhalten des Farbstoffes läßt eher auf eine Humifizierung durch langsame Zersetzung als auf spontane Erhitzung durch hohe Temperatur schließen. Die Erscheinung trat erst Ende Februar ein, so daß genügend Zeit zu einer langsamen Zersetzung unter Gasbildung durch die Wirkung von Mikroorganismen vorhanden war. Wenn auch ein exakter Beweis dafür, daß bei der vorliegenden Selbsterhitzung die vorhandenen *Semiclostridium*-Arten eine entscheidende Rolle gespielt haben, durch die Untersuchungen des Verfassers ebenfalls nicht erbracht wurde, so erscheint es ihm aber doch zweifellos, daß hier bakterielle Wirkungen vorliegen, sei es, daß der *Actinomyces* den Anstoß gab oder das *Semiclostridium*

oder, was wahrscheinlicher ist, beide. Beim Rohzucker läßt sich die Gefahr der Selbsterhitzung durch genügendes Abkühlen vor dem Einlagern, durch nicht zu hohen Wassergehalt des Zuckers und durch geringe Lagerhöhe, wenn auch nicht beseitigen, so doch verringern. Aus allen bis jetzt gewonnenen Erfahrungen in vorliegender Frage geht hervor, daß auch die kleinsten aller Lebewesen einen intensiven Stoffwechsel haben, der eine exotherme Wärmebildung hervorruft, die unter Umständen zu großen Wärmeansammlungen und damit zur Einleitung weiterer Reaktionen führen kann. Ist die Mitwirkung von Mikroorganismen in den meisten Fällen von Selbsterhitzung organischer Massen auch nicht exakt bewiesen, und es wird eine derartige Beweisführung nur selten möglich sein, so lehrt doch die Erfahrung und die Kenntnis der Lebensäußerung der Gärungserreger im Verein mit theoretischer Überlegung, daß sie in den meisten Fällen, wo überhaupt Bakterienwirkung angenommen werden kann, bei der Selbsterhitzung, bezw. Selbstentzündung organischer Massen eine entscheidende Rolle spielen.

Stift (Wien).

Jennings, H., Das Verhalten der niederen Organismen unter natürlichen und experimentellen Bedingungen. Autoris. deutsch. Übersetzung v. **Ernst Mangold**. Groß 8°. XIII + 578 pp. Leipzig-Berlin (B. G. Teubner) 1910. Geh. 9 *M.*, geb. 11 *M.*

Eine objektive Beschreibung der jetzt bekannten Tatsachen des Verhaltens unter natürlichen und experimentellen Bedingungen bei den niederen Organismen für den allgemeinen Leser und den Experimentator im Laboratorium. Sie bezieht sich auf die Protozoen und niederen Metazoen und blieb möglichst unbeeinflusst von den theoretischen Anschauungen, die Verf. vertritt. Sein Bestreben ging dahin, auch alle diejenigen Tatsachen wiederzugeben, die zur Widerlegung irgendeiner seiner allgemeinen Ansichten geeignet wären. Die Echinodermen, Rotiferen und die niederen Würmer werden in einem besonderen Abschnitte, etwas kürzer, behandelt. Es ergab sich das Bedürfnis einer Analyse der Tatsachen, um die sie beherrschenden allgemeinen Beziehungen festzustellen. Dadurch entstand der letzte Teil des Werkes. — Zuerst sei eine kurze Inhaltsübersicht gegeben. I. Verhalten der Amöbe und der Bakterien, der Infusorien und zwar besonders des *Paramecium* (Bau, Bewegungen, Art und Weise der Reaktion auf Reize diverser Art, Gewohnheiten bei der Nahrungsaufnahme). II. Das Verhalten der Coelenteraten und der oben genannten anderen niederen Metazoen. III. Vergleich des Verhaltens einzelliger und vielzelliger Organismen, die Tropismen und die lokale Wirkungstheorie derselben, die Frage, ob das Verhalten der niederen Organismen aus Reflexen besteht, die Analyse des Verhaltens der niederen Organismen, die Entwicklung des Verhaltens, die Beziehungen dieses zu dem psychischen Verhalten, das Verhalten als Regulation und die Regulation auf anderen Gebieten. — Am Schlusse folgt ein Literaturverzeichnis, ein Namen- und Sachregister.

An einem speziellen Beispiele, den Bakterien, wollen wir uns ein Bild der Darstellungsart des Verf. verschaffen. Nach Schilderung des Baues und der Bewegungen derselben erläutert Verf. die Reaktionen auf Reize, wobei er sich auf die Untersuchungen von *Massart*, *Miyoshi*, *Verworn*, *Engelmann*, *Rotherth*, *Pfeffer*, *Mast* stützt. Dann geht er zur Besprechung der allgemeinen Züge in dem Verhalten der Bakterien über. Die hauptsächlichsten Reaktionen der Bakterien erfolgen durch eine ein-

fache Bewegung und zwar in so einfacher Weise, daß wir sie mit einer Reflexbewegung eines isolierten Muskels vergleichen können. Ob die Bakterien sich in einer bestimmten Gegend ansammeln oder diese Stelle meiden, hängt davon ab, was ihre Bewegungsumkehr veranlaßt. Zumeist wird die Reaktion durch eine Veränderung in der Umgebung des Organismus hervorgerufen, welche letztere dann eintritt, wenn das Bakterium an eine Stelle kommt, die sich von seinem früheren Aufenthaltsorte unterscheidet. Der Wechsel kann aber auch in einer wirklichen Veränderung der Umgebung bestehen, z. B. bei dem plötzlichen Aufhören der Belichtung. Zum Unterschiede gegenüber der Amöbe, bei der verschiedene Teile des Körpers verschieden gereizt werden müssen, um den Organismus in eine bestimmte Gegend hineinzuführen, besteht bei dem Bakterium das einzige Erfordernis für das Zustandekommen einer allgemeinen Bewegung in einer bestimmten Richtung darin, daß jede andersgerichtete Bewegung einen solchen Wechsel herbeiführt, der die Bewegungsumkehr verursacht. Eine zu einem gewissen Optimum der Lebensbedingungen führende Veränderung ruft aber keine Reaktion herbei, während ein Wechsel der entgegengesetzten Art die Umkehr der Bewegung bewirkt. Eine negative Veränderung in der Umgebung (Abnahme oder Aufhören irgend einer Einwirkung) kann einen ebenso wirksamen Reiz darstellen, wie ihn ein positiver Wechsel infolge des Einsetzens einer neuen Beeinflussung bildet, was besonders bei den Reaktionen auf Licht und Sauerstoff zu sehen ist. Unter den verschiedenen Arten von Bakterien gibt es einige bestimmte konstante Unterschiede in der Reaktion, woraus sich die Beziehung ergibt, daß das Verhalten auf Reize von der Natur der normalen Lebensvorgänge abhängig ist, besonders denjenigen des Stoffwechsels. Jedes Verhalten, das eine Störung des normalen Stoffwechselprozesses mit sich bringt, wird durch die Umkehr der Bewegung wieder geändert, während ein Verhalten, das keine Beeinträchtigung oder gar eine Begünstigung des Stoffwechselprozesses zur Folge hat, fortgesetzt wird. Das Verhalten ist also ein regulatorisches oder ein adaptives. Dadurch vermeiden die Bakterien wie die höheren Organismen schädliche Einflüsse und sammeln sich unter günstigeren Verhältnissen. Natürlich gibt es hierfür einige Ausnahmen. Faßt man zusammen, so finden wir folgendes: Die Bakterien schwimmen in einer Richtung, die durch die Stellung ihrer Körperachse bestimmt wird, bis diese Bewegung sie in einen Zustand ungünstiger Veränderung hineinführt. Darauf kehren sie um und schwimmen in einer anderen Richtung. Die günstigeren Stellen werden leicht aufgefunden, die Mikroben bleiben dort. Befinden sie sich aber in einer begrenzten Region mit günstigen Bedingungen (z. B. Sauerstoff oder Nahrung), so zeigen die Organismen Bewegungen in allen verschiedenen Richtungen, eine wird zuletzt beibehalten oder durch ihren Erfolg ausgewählt. Das physiologische Verhalten beruht also auf einer Auswahl unter den Lebensbedingungen, wie sie durch die verschiedenen Bewegungen herbeigeführt werden. Aus diesem Beispiele der Darstellungsart ergibt sich ein Bild auf den Gang, den Verf. in seinem Werke eingeschlagen hat.

Die deutsche Ausgabe des Werkes dürfte allgemeinen Beifall erzielen bei den Medizinern und Zoologen, aber auch bei denen, die sich für Tierpsychologie überhaupt interessieren.

M a t o u s c h e k (Wien).

Dobell, C. Clifford, Contributions to the cytology of the Bacteria. (Quarterly Journ. of Microsc. Scienc. Vol. 56. 1911. p. 3. 111 pp. 4 plat.).

Bevor Verf. die Resultate seiner eigenen Untersuchungen bringt, gibt er eine Übersicht über die Hauptarbeiten, die über die Kernfrage bei den Bakterien vorliegen, indem er den Inhalt dieser Arbeiten kurz skizziert. Ein ausführliches Literaturverzeichnis findet sich am Schlusse der Arbeit.

Die auseinanderstrebenden Resultate der Autoren führt Verf. darauf zurück, daß Kulturprodukte untersucht wurden. Es brauchen durchaus nicht alle Reinkulturen desselben Organismus identisch zu sein. Es kamen darum nicht Bakterien aus Kulturen zur Untersuchung, sondern das Material wurde dem Darminhalt dieser Tiere wies zumeist eine Menge von Bakterien auf, oft von erheblicher Größe. Zur Fixierung und Färbung waren zwei Methoden am geeignetsten: 1. Fixierung mit Osmiumsäure oder Formalin und Färbung nach Romanowskis Methode und 2. Fixierung mit Schaudinns Sublimat-Alkohol und Färbung mit Heidenhains Eisen-Alaun-Hämatoxylin. Die letztere hält Verf. für die wertvollste. Vermieden werden muß unbedingt ein Eintrocknen des Materials vor Fixierung und besonders das Trocknen in der Flamme.

Mikrokokken aus *Lacerta muralis* zeigten ein gleichmäßig gefärbtes Plasma mit gut kenntlicher Zellwand und einem zentralen dunklen Körper von rundlicher, quadratischer oder dreieckiger Gestalt, welcher den Chromatinfarbstoff stark speichert. Die Ruheformen zeigen Teilungsstadien. Der Teilung geht voraus die Teilung jenes Körpers, an dem deutlich ein hantelförmiges Stadium erkennbar wird. Verf. sieht in diesem Zentralkörper einen Kern. Häufig nimmt der sich teilende Kern Zickzackformen an. Die kokkobazillären Formen, die sich in Gesellschaft mit den Mikrokokken fanden, hält Verf. für Zwischenformen zwischen *Coccus* und *Bacillus*. Von den runden Kokken mit rundlichem Kern bis zu den stäbchenförmigen Bazillen mit zickzackförmigem oder spiraligem Kernfaden finden sich zahlreiche Übergänge. Mikrokokken aus *Mabuia carinata* erwiesen sich wie die von *Lacerta muralis*. Kokko-Bazillen zeigten zickzackförmigen Kern, die vollkommene Reihe von *Coccus* zu *Bacillus* fehlte hier.

Die Kerne von Sarcinen aus *Bufo melanostictus* stellen ein einfaches Körperchen dar. Die Teilungen vollziehen sich wie bei den Mikrokokken. Da sehr viele Kernteilungen vorlagen, ist zu vermuten, daß die Teilungen langsam vor sich gehen.

Von *Bacillus flexilis* stellt Verf., wie schon früher fest, daß der Kern in Chromidien aufgelöst ist. Bazillen vom *Flexilis*-Typ aus *Lacerta muralis* teilen sich durch Einschnürung und nicht durch Septierung. Die Enden der Individuen sind frei von Chromidien. Aus *Mabuia carinata* erhielt Verf. einen *Bacillus*, der *B. flexilis* durchaus ähnlich war. Sporenbildung konnte jedoch nicht verfolgt werden. Gleicher Kernapparat wie bei *B. flexilis* wurde an sehr großen und schmalen Formen (30:1 μ) aus *Triton vulgaris* konstatiert. Eine ähnliche große Form (40:1 μ) fand sich in *Lacerta muralis*. Neben Individuen mit zahlreichen Chromidien, fanden sich solche mit großen, mehr oder weniger kreisförmigen Kernmassen in der Zahl von drei oder vier, auch eins, und weiterhin solche mit gebrochenem Spiralfaden. Von der letzteren bis zur Chromidialform waren Übergangsstadien zu erkennen.

Bacillus spirogyra besitzt einen spiraligen oder zickzackförmigen Kernfaden. Bazillen von diesem Typ treten in *Lacerta muralis* auf, doch erwiesen sie sich als einsporig. Das Auftreten einer großen Zahl

von Organismen desselben Typs, welche in der Größe Mittelformen darstellen zwischen Bazillen und Kokkobazillen, führt Verf. zu dem Schluß, daß Kokken und Bazillen genetisch verbunden sind. Dieselben Modifikationen, wie sie von *B. spirogyra* bereits beschrieben sind, waren auch an Bazillen aus *Mabui carinata* wieder anzutreffen. Auch in kleinen Formen ist der Spiralfaden deutlich zu erkennen. Bazillen vom *Spirogyra*-Typ aus *Bufo melanostictus* zeigten in den größeren Formen zumeist linearen Kernfaden, in den kleineren spiraligen oder S-förmigen.

In drei Gestalten war die Kernsubstanz bei *Bacillus saccobranchii* sp. aus dem Blute eines Fisches, *Saccobranchea fossilis*, zu beobachten: 1. in der Gestalt eines geraden oder spiraligen Fadens, 2. in kurzen unregelmäßigen, gebogenen oder verzweigten Stückchen, die zuweilen ein Netzwerk bilden, 3. als Chromidien. Verf. sieht hierin Mittelformen zwischen Individuen des *Flexilis*-Typs und des *Spirogyra*-Typs; es sind alles Angehörige der gleichen Art.

Unter den Spirillen sind drei Formen zu unterscheiden: Spirillen mit Kern in Chromidien-Gestalt, Spirillen mit fadenförmigem Kern und Spirillen mit rundlicher Kernmasse. Auch hier war Kernteilung vielfach zu erkennen.

Die spindelförmigen Bakterien sind nach Verf. nur mit Vorbehalt zu den Bakterien zu rechnen. Es ist möglich, daß sie Hefepilze sind. Verf. gibt Beschreibungen von diesen Organismen und solchen, die sicher als Pilze aufzufassen sind, aber in gewissen Lebensstadien große Ähnlichkeit mit Bakterien haben. Sie stammen wie die behandelten Bakterien alle aus dem Darm verschiedener Tiere.

In der Diskussion der gefundenen Resultate behandelt Verf. zunächst die von ihm als metachromatische Körper bezeichneten Reservesubstanzen, um sich sodann der Frage zuzuwenden, ob die in den Bakterienzellen auftretenden Zentralkörper als Kerne zu deuten sind. Das Auftreten dieser Körperchen gleichmäßig in allen untersuchten Bakterien, ihre Farbreaktionen und ihr Verhalten bei der Zellteilung lassen keine andere Deutung zu. Eine Betrachtung der Resultate früherer Arbeiten zeigt, daß, wo sorgfältige Untersuchungen zugrunde liegen, die Ergebnisse des Verf. durch sie nicht widerlegt werden, in vielen Fällen sogar vollkommen mit ihnen übereinstimmen. Ob ein blasenartiger Kern bei den Bakterien auftreten kann, vermag Verf. nicht zu entscheiden. Es gelang ihm nirgends, derartige Kerne festzustellen, außer in Organismen, die sich als Pilze aus der Gruppe der *Saccharomycetes* erwiesen. Die Beobachtungen des Verf. ergaben, daß der Bakterienkern mehrere Formen in den Lebensstadien der Bakterien annimmt: Chromidialform, Fadenform, die Form vereinigter Massen, und die Form eines Systems von unregelmäßig verzweigten oder gebogenen Stäbchen oder Netzwerks. Viele von diesen Formen sollten als vorübergehend aufgefaßt werden, daß dies nicht immer geschah, erklärt die Abweichungen in den Beschreibungen verschiedener Autoren. Verf. hält im Gegensatz zu der Mehrzahl der Bakteriologen die meisten Bakterien für pleomorph. Eine Reihe von Arbeiten hat den sichern Beweis gebracht für den Plemorphismus einer Anzahl von Bakterien. Wie die Form des Kernes; so muß auch die Zellform zu variieren vermögen. Mit absoluter Sicherheit darf ausgesprochen werden, daß die Bakterien nie ohne Kern sind. Die Verwandtschaft der Bakterien bleibt noch immer zweifelhaft. Den Pilzen dürfen sie nicht angereihet werden. Dagegen sprechen die zytologischen Befunde. Man sollte also nicht von „Spaltpilzen“ oder *Schizomycetes* reden. Es existiert auch keine wirkliche Ähnlichkeit mit den

Protozoen. Wohl aber sind Beziehungen zu den Cyanophyceen vorhanden, so in den Kernen. Andererseits jedoch gibt es hier auch bedeutende Abweichungen.

In einem Appendix wendet sich Verf. gegen Ružička, und vertritt seinen schon früher dargelegten Standpunkt, daß die sogenannte Autogamie bei der Sporenbildung nicht für einen sexuellen Prozeß gehalten werden darf, sondern daß dieser Vorgang nichts als eine unvollkommene Zellteilung darstellt.

Eddelbüttel (Göttingen).

Kufferath, H., Note sur les tropismes du Bact. Zopfii Kurth (Annal. de l'Institut Pasteur. T. 25. 1911. p. 601—617, av. 3 plat.).

Nicht der von Massart angenommene negative Geotropismus, sondern die im Substrat herrschenden Tensionen bestimmen die Richtung der Ausläufer (Elasticotropie Jacobsens). Zwischen der Form der Kolonien und der Gestalt der Einzelzellen besteht ein Zusammenhang derart, daß in den verzweigten Oberflächenkolonien die Fadenform, in den rundlichen Tiefenkolonien dagegen die Kurzstäbchen-Form vorherrscht.

Löhnis (Leipzig).

Fettick, O., Erdbeergeruch erzeugendes Bakterium (Pseudomonas fragaroides Huß) als Ursache eines Milchfehlers. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bd. 21. 1911. p. 280—283.)

Milch mit stark kratzendem, ranzigem Geschmack und ebenfalls ranzigem Fäulnisgeruch enthielt zahlreiche Keime von Pseudomonas fragaroides (einer Aroma produzierenden Florescens-Varietät), die im Verein mit ebenfalls reichlich vorhandenen (typischen) Keimen von Bact. fluorescens die betreffende Erscheinung hervorriefen. Die Erdbeer-Bakterien stammten von dem in dem betreffenden Falle verfütterten Maisstroh und Heu, die Fluoreszenten aus Brunnenwasser.

Löhnis (Leipzig.)

La Garde, Über Aerotropismus bei Schimmelpilzen. (Lotos, Prag. Bd. 58. 1910. p. 349.)

Hinsichtlich des Verhaltens gegen den Sauerstoff der Luft untersuchte Verf. einige Mucorineen. Nur Phycomyces nitens, M. corymbifer, M. spinosus, M. racemosus, M. mucedo, erwiesen sich als positiv äerotrop u. zw. in bestimmten Nährlösungen. Erstere Art zeigte ihn in Pepton-Dextrin-Fleischextrakt, Molischs Pilznährlösung, in Aprikosen-, Pflaumen-, Orangen-Dekokt; die zweite Art in oben an erster Stelle genanntem Extrakt; die anderen Arten in Pflaumendekokt, M. Mucedo und spinosus auch in Molischs Pilznährlösung. Es zeigt sich also eine ausgesprochene Abhängigkeit der erwähnten Erscheinung von den Nährsubstraten.

Die auskeimenden Hyphen der äerotropen Pilze krümmten sich deutlich gegen die sauerstoffreicheren Teile des Substrates oder sie bildeten in den Zonen einer bestimmten Sauerstoffspannung reichlich verzweigte Seitenhyphen (Aeromorphose).

Matouschek (Wien.)

Linossier, G., Influence du fer sur la formation des spores de l'Aspergillus niger. (Compt. rend. Ac. Scienc. Paris. T. 151. 1910. p. 1075—1076.)

Das Pigment, welches in den Sporen des Aspergillus niger

enthalten ist und dem der Pilz seinen Namen verdankt, wurde vom Verf. rein dargestellt und näher untersucht. Es zeigt ähnliche Reaktionen wie das Haematin des Blutes. Bei Abwesenheit von Eisen im Nährsubstrat unterbleibt demnach auch die Sporenbildung. N e g e r (Tharandt).

Kühl, Hugo, Zur Charakteristik des *Aspergillus glaucus* Link. (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chem. Bd. XVI. 1911 p. 85—88).

1) Pastillen, aus Kakaopulver und Traganth bereitet, kamen zur Untersuchung. Davon wurden Kulturversuche gemacht und zwar auf Stärkenährböden. 3 Impfungen erzielte Verf. und zwar grüspanfarbene, schmutzig-graugrüne und graubraune. Wurden sie bei 37° C im Trockenschrank belassen, so zeigte sich nach 1 Woche kein Wachstum, kamen sie aber in gewöhnliche Temperatur (10—14° C am Tage, 6—10° C bei Nacht), so zeigte sich schon nach zwei Tagen starkes Wachstum. Wurden ersterwähnte Kulturen bei gewöhnlicher Temperatur belassen, so zeigte sich rasches Wachstum. Das Maximum des Wachstums liegt bei 30° C, das Minimum bei 7° C, das Optimum bei 20—25° C. Um irgend eine Droge oder dergleichen vor dem Pilze zu schützen wird man im Winter trockene Kälte, im Sommer trockene Wärme anwenden. Wertvolle Drogenpulver bewahrt man am besten in großen Exsikkatoren in der Wärme auf (Anwendung von Ätzkalk in demselben, luftdichter Deckel). — Vorzüglich gedeiht der Pilz auf Brot und Leder; auf flüssigen und zuckerhaltigen (+ Salpeter) Böden gedeiht er nicht. Daher tritt er auf Fruchtsäften gar nicht auf, wohl auf getrockneten Pflanzendrogen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Carbone, D. e Rusconi, M., Attorno ad alcune attività di un *Penicillium*. (Boll. Soc. med. Pavia. 15. V. 1910.)

Eine Anilinfarben stark angreifende *Penicillium*-Rasse wurde aus schimmeliger Tinte isoliert und auf 16 Anilinfarben einwirken lassen. Dabei wurden mehrere Farben oft total zersetzt oder entfärbt; manche schienen dem Pilz Nahrung liefern zu können. P a n t a n e l l i (Rom.)

Boselli, J., Etude de l'inulase d'*Aspergillus niger*. (Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 25. 1911. p. 695.)

Der Gehalt des *Aspergillus niger* an Inulase ist annähernd derselbe, ob der Pilz auf Inulin, Lävulose, Saccharose, Glukose oder Saccharose + Pepton gewachsen ist. Das Enzym diffundiert in die Kulturflüssigkeit, besonders aus älteren Kulturen. Das Gesetz seiner Wirkung ist logarithmisch. Das Optimum der Wirkung hängt von der Temperatur und der Acidität ab, letztere muß um so geringer sein, je höher die Temperatur steigt. Bei gleicher Acidität erscheint das Wirkungsoptimum bei 51°. Bei dieser Temperatur ist das Aciditätsoptimum für Schwefelsäure $\frac{1}{200}$ normal, für Oxalsäure $\frac{1}{12,5}$ normal. Alkalien hemmen sofort.

E m m e r l i n g (Hermsdorf).

Dox, Arthur, W., The Phosphorus Assimilation of *Aspergillus niger*. (Journ. of Biolog. Chem. Vol. X. 1911. p. 77.)

D o x zeigt in seiner kurzen Mitteilung, daß *Aspergillus niger* den Phosphor in verschiedenen Bindungsformen gut auszunutzen imstande ist. Er bediente sich der R a u l i n s c h e n Nährlösung in der das Ammoniumphosphat durch die zu prüfenden Substanzen ersetzt wurde. Von anorganischen Salzen waren Natriumorthophosphat, Natriumpyrophosphat und

Natriummetaphosphat ausgezeichnet geeignet. Mit Natriumhypophosphit wurde nur Keimung und mit Natriumphosphit keine Entwicklung beobachtet, trotzdem auch diese Salze keine toxischen Eigenschaften haben.

Mit folgenden Substanzen konnte in organischer Bindung ausgezeichnetes Wachstum erzielt werden: Phytin, Natriumglyzerinphosphat, Natriumnukleat, Lecithin, Kasëin und Ovovitellin. Der Verf. nimmt an, daß der Phosphor aus diesen Bindungen in Gestalt von Phosphorsäure abgespalten wird, ehe er vom Pilz ausgenutzt wird. Doch muß das als noch fraglich gekennzeichnet werden. Zusammenfassend kann man also sagen, daß der dreiwertige Phosphor im Gegensatz zum fünfwertigen für die Assimilation durch den Pilz nicht geeignet ist.

H Pringsheim (Charlottenburg).

Griffon, E. et Maublanc, A., Deux moisissures thermophiles. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 27. 1911. p. 68—74.)

Zwei thermophile Hyphomyceten, *Sepedonium lanuginosum* (Miehe) Nob. und *Penicillium Dupontii* nov. sp., werden näher beschrieben (mit lateinischer Diagnose) und abgebildet.

Lakon (Tharandt.)

Walpole, G., The action of *Bac. lactis aërogenes* on glucose and mannitol. Part. II. The investigation of the 2:3 butanediol and the acetylmethylcarbinol formed; the effect of free oxygen upon their production; the action of *Bac. lactis aërogenes* on fructose. (Proc. Roy. Soc. Vol. 83. 1911. p. 272).

Wenn Glukose von *Bac. lactis aërogenes* zersetzt wird, bildet sich ein aus zwei optisch inaktiven 2:3 Butandiolen zusammengesetztes Glykol, welches als Phenylurethan isoliert wurde. Aus dem 2:3 Butandiol entsteht bei Sauerstoffanwesenheit mit Hilfe des *Bac. lactis aërogenes* Acetylmethylcarbinol. Bei Fructose sind die Verhältnisse ganz analog.

Emmerling (Hermesdorf.)

Lewis, Charles E., Occurrence of *Monascus Barkeri* in bottled pickles. (Mycologia. Vol. II. p. 174.) 1910.

In einem verschlossenen Gefäße, das eingemachtes Obst enthielt und von einer Firma aus Chicago stammte, sah Verf. ein dichtes weißes Pilzmyzel. Er ließ das Gefäß ungeöffnet im Laboratorium und konnte später den Pilz *Monascus Barkeri* Dangeard konstatieren, den er auch kultivierte. Diese Art war bisher nur aus Ostasien bekannt. Das Vorkommen des Pilzes läßt sich wohl nur so erklären, daß Gewürz aus Asien zur Herstellung des „Eingemachten“ verwendet wurde, auf welchem ersterem wohl der *Monascus* lebte. Die Sporen erwiesen sich nämlich, wie Verf. konstatiert, sehr lange Zeit lebensfähig, namentlich wenn sie trocken gehalten werden.

Matouschek (Wien).

Schmidt, W., Kurze Darstellung der Phaenomene der Gärung und ihrer Beziehungen zur Praxis. Teil II. (38. Jahresber. des k. k. Staatsobergymnas. Krumau pro 1910/11. Krumau i. Böhm. 1911. p. 1—19.)

Wie der I. Teil (im 37. Jahresber. obiger Anst. veröffentlicht) so bezweckt auch der II. Teil die Beziehungen zu beleuchten und die Berührungspunkte festzuhalten, die zwischen den Gärungserscheinungen und der Praxis bestehen. Nur die wichtigsten Produktionen in ihren leitenden Grundsätzen werden

betont. Der II. Teil beschäftigt sich mit der Preßhefe, der Ansatz- oder Kunsthefe, der Trockenhefe oder Dauerhefe (Backpulver), dem Wein, dem Bier, dem Spiritus, der Essigsäure. — Die Darstellung ist eine recht klare.

M a t o u s c h e k (Wien.)

Euler, H. u. Lundequist, G., Zur Kenntniss der Hefegärung. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 72. 1911. p. 97.)

Eine von Verff. benutzte Hefe war maltosearm, trotzdem wurde Maltose fast ebenso schnell vergoren wie Glukose. Man kann daher annehmen, daß die Maltose direkt vergoren wird, der von E. F i s c h e r geführte Nachweis, daß viele Hefen ein Maltose spaltendes Enzym entfalten, sagt noch nicht, daß nicht Maltose von diesen Hefen auch direkt gespalten werden kann. Es kann die Tatsache aber auch anders erklärt werden. Die Gärung der Glukose wird sowohl durch neutralisiertes, wie durch reines Mononatriumphosphat beschleunigt. Die Gärung der Maltose wird unter den gleichen Umständen nicht beeinflusst. Dies deutet darauf hin, daß die bei der Vergärung der Maltose eintretenden Zwischenreaktionen teilweise andere sind als diejenigen, welche bei der Gärung der Glukose statthaben. E m m e r l i n g (Hermsdorf.)

Euler, H. und Kullberg, S., Über das Verhalten freier und an Protoplasma gebundener Hefenenzyme. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 73. 1911. p. 85.)

1. Z y m a s e. Lebende Hefezellen vergären Glukose unter folgenden Bedingungen. Die Gärung verläuft um so schneller, je verdünnter die Zuckerköslung ist. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist annähernd proportional der angewandten Hefemenge. Die Gärung der lebenden Hefe wird durch Anästhetica, wie Toluol, Thymol, Chloroform aufgehoben, durch Zusatz von Natriumphosphat $\text{Na H}_2 \text{PO}_4$ um ca 25% beschleunigt. Die Gärwirkung des Hefepreßsaftes wird durch genannte anästhetisierende Mittel nicht beeinflusst, wohl aber Trockenhefe.

2. M a l t o s e. Maltose wird von frischer Hefe je nach der Art der Vorbehandlung gespalten. Kräftige Bierhefe, welche in Maltoselöslung gezogen war, spaltete bisweilen schneller als die Gärung verlief. Chloroform hebt sowohl die Spaltung wie Vergärung auf. Toluol setzt die Spaltung herab.

3. I n v e r t a s e. Beim Entwässern von frischer Hefe bleibt etwa die Hälfte des Invertins erhalten, wobei die Hefe nur noch $\frac{1}{20}$ ihrer Gärwirkung behält. Chloroform, Toluol, Thymol sind ohne Einflüsse. Aus den Versuchen ergibt sich: Die Hefenenzyme sind ursprünglich Bestandteile des Plasmas und werden entweder schon in der lebenden Zelle vom Plasma abgeschieden und dann am Plasma wieder regeneriert; sie sind dann relativ leicht extrahierbar und in relativ großer Menge in den Zellen vorhanden. Oder aber die Abtrennung erfolgt erst (teilweise) beim Entwässern der Hefe oder durch mechanische Mittel, überhaupt unter den Umständen, unter welchen das Plasma getötet wird. Gegen Antiseptika sind die Hefenenzyme in dem Maße unempfindlich, als sie vom lebenden Plasma befreit sind.

E m m e r l i n g (Hermsdorf.)

Wager, Harold, The yeast cell. (Journ. of the Instit. of Brewing. Vol. 17. 1911. p. 2—15).

Verf. legt eingehend seine Ansichten über den Bau der Hefezelle klar.

Zur Fixierung wandte er Jodlösung nach G r a m, Chromessigsäurelöslung nach F l e m m i n g oder salpetersäurehaltige Löslung nach P e r e n y i an. Dagegen verwarf er Alkohol, Sublimat und Pikrinsäure. Zur Färbung wurde

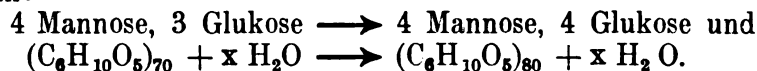
die **Heidenhainsche Hämatoxylinmethode** gewählt. Schnitte durch die Hefezellen wurden in folgender Weise angefertigt: In einem Reagenzrohr wurde fixierte und gefärbte Hefe erst mit verdünntem, dann mit konzentriertem Methyl-Alkohol, dann mit Xylol behandelt und schließlich in Paraffin erst von möglichst niederem, dann von höherem Schmelzpunkte eingebettet. Hierauf kühlte er das Reagenzrohr schnell ab und zerbrach es vorsichtig. Der so erhaltene kleine Paraffinblock wurde mikrotomiert.

Nach Ansicht des Verf. finden sich stets in der Hefezelle zwei Organe, die Vakuole und der Nucleolus. Diese beiden Organe gehören eng zusammen und entsprechen in ihrer Gesamtheit dem Kern der höheren Organismen. Verf. nennt die Gemeinschaft derselben „Nuklearkakuole“. Die Vakuole zeigt an ihrer Peripherie deutliche Netzstruktur, die in den Nucleolus überzugehen scheint. Verf. beschreibt ferner ausführlich den Vorgang der Glykogenbildung im Innern der Hefezelle bei der Gärung. In dem Masse, als das Glykogen an Menge zunimmt, verliert die Zelle ihr Gärungsvermögen und sinkt zu Boden.

W. Herter (Tegel).

Euler, H. und Fodor, A., Zur Kenntnis des Hefengummi (Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. 72. 1911. p. 339.)

Es erscheint nicht richtig das Invertin als Eiweißkörper anzusehen, vielmehr ist es wahrscheinlich, daß es wie das Hefengummi ein höheres Kohlehydrat und mit dem Hefengummi verwandt ist. Am geeignetsten zur Darstellung des letzteren erwies sich die Methode von **Salkowski**. Die spezifische Drehung des so gewonnenen Gummi war $\alpha_D^{20} = 75,2$ nach nochmaliger Reinigung 86,95. Nach anderer Weise gewonnene Substanz zeigte 87,7 resp 89. Das Molekulargewicht liegt über 10 000. Bei der Hydrolyse entstanden Glukose und Mannose. Die Verff. nehmen als die Grenzen der Zusammensetzung an:



Emmerling (Hermsdorf.)

Young, J., Über die Zusammensetzung der durch Hefepreßsaft gebildeten Hexosephosphorsäure. II. (Biochem. Zeitschr. Bd. 32. 1911. p. 177).

In der Hexosephosphorsäure, wie sie bei der Einwirkung von Zymase auf Glukose, Fruktose, Mannose in Gegenwart von Phosphaten entsteht, sind zwei Phosphorsäurereste und ein Hexoserest enthalten und sie besitzt die Zusammensetzung $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4 (\text{P}_4\text{H}_2)_2$.

Ein Molekül Phosphorsäure spaltet sich beim Erhitzen der Hexosephosphorsäure mit Phenylhydrazin ab, wobei das Lebedew'sche Hexosephosphorsäureosazon als Phenylhydrazinsalz entsteht, wogegen in der Kälte eine unbeständige Verbindung gebildet wird.

Emmerling (Hermsdorf.)

Rosenthal, J., Die Enzyme und ihre Wirkung. (Biolog. Zentralbl. Bd. 31. 1911. p. 185—191, 214—222).

Verf. unterscheidet scharf zwischen der chemischen Hypothese bezüglich der enzymatischen Vorgänge und der physikalischen Hypothese. Die Begründer der letzteren sind **J. v. Liebig** und **Nägeli**. Verf. modifiziert die Anschauungen dieser Forscher wie folgt: „Enzyme sind hochkomplizierte chemische Stoffe, deren Atome oder Atomkomplexe in lebhafter Bewegung begriffen sind, sodaß sie in ihren Molekeln einen beträchtlichen Energie-

vorrat enthalten. Bei Berührung mit anderen hochkomplizierten Stoffen kann die Energie dieser Bewegung ganz oder zum Teile auf letztere übertragen werden und die Atombewegungen in ihnen so weit steigern, daß die Affinität an bestimmten Stellen der Molekeln überwunden wird, sodaß sich einzelne Atomgruppen aus dem Gesamtmolekularverbande lösen; die Körper werden gespalten.“ Es ist nun dem Verf. gelungen, gewisse hochkomplizierte Körper, welche durch Enzyme zerlegt werden, in ganz gleicher Weise zu spalten, indem er sie der Einwirkung elektrischer Schwingungen bestimmter Art aussetzte. Die zu verändernden Stoffe brachte er entweder in wässriger Lösung oder, wenn sie unlöslich waren, in Wasser aufgeschwemmt in ein Solenoid und leitete durch dessen Windungen elektrische Ströme, welche in regelmäßiger Folge entweder einfach unterbrochen oder in ihrer Richtung gewechselt wurden. Waren die Ströme schwankend, so traten Zerlegungen ein, wie sie bei den betreffenden Substanzen durch Enzyme hervorgerufen werden. Die Hauptsache ist nur eine ganz bestimmte Zahl der Unterbrechungen oder der Richtungswechsel. Für jeden Stoff sind bestimmte Frequenzen wirksam. Bei 320—360 Wechseln in der Sekunde konnte Verf. Proteine in Albumosen und Peptone zerlegen; Glukoside, Disaccharosen aber erforderten eine viel höhere Frequenzzahl. Auffallend ist es, daß die wirksam befundenen Frequenzen niedrig liegen. Die richtige Frequenzzahl der Unterbrechungen muß aber vorläufig empirisch gefunden werden, eine recht zeitraubende Manipulation. Dadurch, daß also Energiezufuhr von außen in geeigneter Form die chemische Spaltung der hochzusammengesetzten Stoffe in einfachere Komponenten veranlassen kann, ist für die physikalische Hypothese eine brauchbare Unterlage für eine Theorie der Enzymwirkungen dargetan.

M a t o u s c h e k (Wien).

Cook, Melville Thurston, Bassett, H. P., Thompson, Firman and Taubenhaus, J. J., Protective enzymes. (Science. Vol. 33. 1911. p. 624.)

Chemische Untersuchungen von Pomaceen-Früchten zeigten, daß der Tanningehalt dieser Früchte unter verschiedenen Bedingungen sehr verschieden ist. Äpfel, die abgepflückt und dann sofort zur Unterbrechung der enzymatischen Vorgänge in kochendes Wasser getaucht wurden, zeigten einen geringeren Tanningehalt als Früchte desselben Baumes, die abgefallen waren und bei denen die Enzymtätigkeit nicht unterbrochen war.

Die Verff. untersuchten Preßsäfte von Früchten auf lösliche Stickstoffverbindungen; diese sind geringer, wenn Tannin oder ein Tannin-ähnlicher Körper gebildet wird. Im Preßsaft von reifen Äpfeln zeigte sich keine Abnahme der löslichen Stickstoffverbindungen, in Preßsaft von grünen Äpfeln in 48 Stunden eine Abnahme von 64%, im Preßsaft von Birnen in derselben Zeit eine Abnahme von 14% und im Preßsaft von Wallnußschalen in 94 Stunden eine Abnahme von 16%. Die Verff. vermuten, daß durch Enzyme in den Preßsäften Tannin gebildet wird; sie untersuchten den Preßsaft verschiedener Früchte und fanden eine Katalase und eine Oxydase. Die Oxydase ist in den unreifen Früchten sehr reichlich vorhanden und verschwindet nach und nach mit der fortschreitenden Reife der Früchte. Tannin ist als solches in den Früchten nur in Spuren, oder gar nicht vorhanden; nach Ansicht der Verff. befindet es sich in den Zellen als mehratomiges Phenol. Bei Verletzungen wird dieses Phenol durch die Oxydase in eine Tannin-ähnliche Verbindung umgewandelt. Werden also unreife Früchte von Pilzen oder Insekten ange-

griffen, so bildet sich in den Zellen mit Hilfe der Oxydase ein Tannin-ähnlicher Körper, den die Verff. als Schutzmittel gegen den Schädling auffassen.
Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Welter, Beitrag zur Kenntnis der Reversibilität der Enzymwirkung. (Zeitschr. f. angew. Chem. 1911. p. 385).

Die Fähigkeit der Enzyme, nicht nur hydrolytische sondern auch umgekehrt synthetische Wirkungen auszuüben, ihre Reversibilität, wurde von Verf. an dem Enzym des Rizinussamens, das in der Fett- und Ölindustrie zur Gewinnung von Fettsäuren und Glycerin eine nicht unbedeutende Rolle spielt, näher studiert. Er verwandte zu seinen Untersuchungen das sog. „Ferment“, d. h. eine konzentrierte Form des in den Rizinussamen enthaltenen fettspaltenden Enzyms, welches nach einem ganz bestimmten Anreicherungsverfahren gewonnen wird. Dieses Ferment war, wie Verf. im einzelnen an mehreren Versuchen darlegt, im Stande, synthetische Vorgänge zu veranlassen, wenn die Gegenwart von Wasser bei der Reaktion möglichst vermieden wurde, wenn es also auf 100prozentige Fettsäure und nahezu reines Glycerin einwirken konnte. Es entstand bis zu 35 Proz. Neutralfett.

Diese Reversibilität der Enzymwirkung hat besondere Bedeutung für die Tier- und Pflanzenphysiologie, da sich im lebenden Organismus ständig katalytische Prozesse zwischen den Geweben und den Flüssigkeiten abspielen.

Ob der Prozeß im Sinne einer Spaltung oder Synthese verläuft, hängt von dem relativen Verhältnis der einzelnen Reaktionsprodukte untereinander ab. Bei der Hydrolyse wird der End- oder Gleichgewichtszustand der Theorie am nächsten kommen, je mehr die Reaktionsprodukte mit Wasser verdünnt werden. Wird umgekehrt das Wasser entfernt, so wird sich der Gleichgewichtszustand nach der anderen Seite verschieben, und es wird eine Synthese eintreten.

Vogel (Bromberg).

Rohonyi, H., Enzymwirkungen und elektrolytische Dissoziation. (Biochem. Zeitschr. Bd. 34. 1911. p. 176).

Der Unterschied in der Leitfähigkeit von aktiver und inaktiver Enzymlösung ist auf das Verdampfen von Wasser während des Inaktivierens zurückzuführen. Daher verschwindet dieser Unterschied beim Zusetzen von Wasser. Bei der Stärke gelangen die während der Spaltung freiwerdenden Salz-moleküle in die Lösung, die Leitfähigkeit wächst daher, beim Invertieren von Rohrzucker ist dies nicht der Fall. Die H-Ionenkonzentration der Lösung ändert sich bei der Wirkung der Diastase und Invertase nicht.

Emmerling (Hermsdorf.)

Hedin, G., Über das Labzymogen des Kalbsmagens. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 72. 1911. p. 187).

Ein Auszug aus Kalbsmagen, welcher möglichst neutral ist, enthält zwar stets Lab, letzteres ist jedoch von dem mit Salzsäure hergestellten verschieden, indem es nicht dem für Enzyme geltenden Zeitgesetz gehorcht, sondern für kleine Mengen Zymogen eine kürzere Gerinnungszeit als für größere gibt. Wenn das Zymogen in einer 0,017 norm. Lösung von Ammoniak auf 37° erwärmt und dann neutralisiert wird, so verliert es seine Labwirkung und hemmt die Wirkung zugesetzten Labs. Wird Salzsäure zugesetzt, so tritt die Labwirkung wieder ein und verschwindet auch nicht beim Neutralisieren mit Ammoniak. In vieler Beziehung treten hier dieselben Erscheinungen auf, wie bei der Hemmung durch Serum. Der im Zymogen befindliche Hemmungskörper stammt nicht von dem in der Schleimhaut vorhandenen Serum.

Emmerling (Hermsdorf).

Teichert, K., Über die Bereitung von Labkugeln. (Milchzeitung. Bd. 40. 1911 p. 237 f.)

Die in Allgäuer Käseereien übliche Art der Herstellung von Labkugeln wird besprochen. Statt mit süßer Schotte, werden diese jetzt vielfach unter Verwendung von Reinkulturen des *Bac. casei* s. und des *Lab-Mycoforma* bereitet. Die sonst besonders bei schlechtem Magenmaterial (in Milchzuckeragar) häufig zu beobachtenden Gasbildner werden hierdurch unterdrückt und eine schnellere und kräftigere Reifung des Labansatzes erzielt.

L ö h n i s (Leipzig).

Schmidt, Ernst Willy, Die Beziehungen der Oxydationsfermente zur Pflanzenatmung. (Naturwissenschaftl. Wochenschr. N. F. Bd. 10. 1911. p. 257—264.)

Eine kritische Studie all der neuen Arbeiten über den Gegenstand. In der Mitte der Erläuterungen stehen die Untersuchungen von W. P a l l a d i n, K o s t y t s c h e w und ihrer Mitarbeiter. Auf den geschichtlichen Rückblick zu diesem Thema kann nicht eingegangen werden. P a l l a d i n's Ansicht über die Pflanzenatmung gipfelt etwa in folgendem Schema:

Primärer Prozeß.

Anaerobe Enzyme

(Zymase, Katalase usw.)



Gärungsprodukte

Sekundärer Prozeß.

Luftsauerstoff



Atmungsoxydasen



Phytohämatine



Peroxyde (H_2O_2 oder Oxygenasen)

Atmungsprodukte

(CO_2 , H_2O).

Die im primären (anaeroben) Atmungsprozesse gebildeten Produkte (Glyzerinaldehyde bzw. Dioxyaceton usw.) werden oxydiert mit Hilfe des O, den die durch die Atmungsoxydasen zu Peroxyden (Oxygenasen) gewordenen Phytohaematine an die intramolekulär entstandenen Zwischenprodukte abgeben. Als Endprodukte des gesamten Atmungsvorganges treten Kohlendioxyd und Wasser auf.

Diese Ansicht ist vorläufig rein hypothetischer Natur; ganz besonders gilt dies von der schematischen Darstellung des aeroben (sekundären) Prozesses der Atmung. Da gipfelt alles in den von P a l l a d i n angenommenen Atmungschromogenen oder Phytohaematinen s. str. Aber es ist doch fraglich, ob diese wirklich etwas mit der Atmung zu schaffen haben. Zeigen ja auch die Pflanzensäfte ein verschiedenes Verhalten: Direkte Oxydation an die Luft, andererseits vielfach Färbung durch Hinzufügen eines Katalysators nebst O-trägers (Peroxydase + H_2O_2). Es fehlt andererseits einwandfreies Tatsachenmaterial zu einer sicherbasierten Theorie einer regulatorisch von spezifisch wirkenden Enzymen beeinflussten Pflanzenatmung.

M a t o u s c h e k (Wien).

Nazari, V., Azione di alcune ossidasi artificiali e di diversi composti metallici su la germinazione e su l'accrescimento delle piante. (Rendic. Accad. Lincei. Ser. 2. Vol. 19. 1910. 2. Sem. p. 361—367; Stazioni sperim. agrarie. 43. 1910. p. 667—684.)

Weizenkörner wurden bei Gegenwart von 1% Mangandioxyd oder Eisensesquioxid in Sand mit oder ohne 10% igem Torfzusatz auskeimen lassen; ferner wurden Körner mit einem Gemisch aus 3% iger Eiweißlösung, Mangandioxyd und Stärkekleister belegt (Trillats künstliche Oxydase). Außer-

dem wurden Feldversuche mit Mangansulfat, -dioxyd, -karbonat, Eisen-, Kupfer- und Aluminiumsulfat ausgeführt. Mangan wirkte auf die Keimung belegter Samen als Oxyd, auf Vegetation und Samenansatz als Karbonat, nur auf die Vegetation als Sulfat, nur auf die Kornproduktion als Dioxyd günstig; Eisensulfat half nur gegen den Rost; Kupfer- und Aluminiumsulfat setzten die Vegetation herab.

P a n t a n e l l i (Roma.)

Zaleski, W. u. Reinhard, A., Über die fermentative Oxydation der Oxalsäure. (Biochem. Zeitschr. Bd. 33. 1911. p. 449).

Beim Befeuchten von Weizenmehl mit Oxalsäurelösung unter antiseptischen Bedingungen wird eine erhebliche Menge Kohlensäure gebildet, indem die Oxalsäure fermentativ oxydiert wird. Im Wasserstoffstrom entstehen nur geringe Mengen Kohlensäure, welche nicht der Oxalsäure, sondern dem Mehl entstammen. Der Vorgang ist ganz verschieden von der Oxydation der Oxalsäure am Licht in Gegenwart von Uransalzen, da sich in diesem Falle Kohlenoxyd bildet. Ebenso wie Weizenmehl wirkt Knochenkohle. Diese Oxydationen erfolgen nur bei bestimmten Konzentrationen, in dreiprozentiger Lösung wird Oxalsäure nicht oxydiert, aber rasch in einprozentiger Lösung. Zusatz von Methylalkohol hebt die Oxydation auf, weil die im Weizenmehl enthaltene Katalase abgetötet wird. Erbsensamen und Weizenkeime oxydieren nicht. Äther hebt die Oxydation nicht auf.

E m m e r l i n g (Hermsdorf.)

Lebedeff, A., La zymase est-elle une diastase? (Annal. de l'Institut Pasteur. T. 25. 1911. p. 682).

Um zu zeigen, daß die Zymase ein echtes Enzym ist, d. h. ein Katalysator, bedarf es des Nachweises, daß die unter gleichen Bedingungen gebildeten Mengen von Kohlensäure und Alkohol nicht von der Menge des Enzyms abhängen, welche lediglich die Geschwindigkeit der Reaktion beeinflussen kann, und daß das Enzym am Ende der Gärung unverändert vorhanden ist. Verf. hat den verwendeten Preßsaft aus Hefe nach seiner in den Compt. Rend. de l'Academ. des sciences v. 3 Januar u. 24. April 1911 beschriebenen Methode hergestellt. Aus den Versuchen, welche in Tabellen zusammengestellt sind, geht hervor, daß die Zymase des Preßsaftes ein typisches Ferment ist, daß die Quantität des vergorenen Zuckers proportional der Quantität des Coenzyms ist, wenn dasselbe in geeigneter Konzentration vorhanden ist, und daß das Herabsinken der Gärkraft lediglich durch eine Zerstörung des Coenzyms zu erklären ist.

E m m e r l i n g (Hermsdorf.)

Eriksson, A., Über die Hemmung der Invertinwirkung. (Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. 72. 1911. p. 313.)

Die Invertinlösung wurde aus Hefe gewonnen, welche mit Wasser zu einem Brei angerührt und einen Tag lang geschüttelt wurde. Nach Auspressen wurde filtriert, das Eiweiß durch Kaolin entfernt und dialysiert. Eine Hemmung der Invertinwirkung findet durch Kohle statt und wächst bis zu einer bestimmten Grenze mit der Zeit, steigt mit der Temperatur und kann durch Zusatz geeigneter Mittel wieder aufgehoben werden. Wie Kohle wirkt auch Serum hemmend. Dabei ist, wie H e d i n beim Trypsin und Lab nachgewiesen hat, die Reihenfolge des Mischens der einzelnen Körper von Einfluß. Die Hemmung ist stärker, wenn z. B. Kohle einige Zeit vor dem Zusetzen des Substrats mit dem Enzym aufbewahrt wird, als wenn die Kohle unmittelbar nach dem Zusatz des Substrats zugeführt wird. In der Invertinlösung selbst

finden sich Hemmungskörper, welche durch Erhitzen auf 100° nicht oder sehr wenig beeinflusst, und von Kohle zum Teil nicht aufgenommen werden. Sie diffundieren nur langsam durch Membranen.

Emmerling (Hermesdorf.)

Michaelis, L. und Davidsohn, H., Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin. (Biochem. Zeitschr. Bd. 35. 1911. p. 386).

Die Säuredissoziationskonstante des Invertins, welches als amphoterer Elektrolyt anzusehen ist, beträgt 2,10—7; die Basendissoziationskonstante ungefähr 11—12. Das Invertin vermag den Rohrzucker nur zu spalten, wenn es nicht dissoziiert ist. Sowohl Anionen wie Kationen wirken nicht als Fermente.

Emmerling (Hermesdorf.)

White, Jean, The proteolytic enzyme of *Drosera*. (Proceed. Roy. Soc. 1910. Ser. B. Vol. 83. p. 134—139).

Die Versuche, um das Verdauungsvermögen des *Drosera*safes festzustellen, wurden in folgender neuen Richtung ausgeführt: Sterilisierte australische *Drosera*arten wurden in kleine Stücke zerschnitten, gewogen und in eine Flasche mit 100 ccm lauwarmen gekochten Wassers, dem etwa 30 Tropfen Chloroform als Antisepticum zugegeben wurden, eingeschlossen. Nach zweistündigem Schütteln der Flasche wurde der Inhalt filtriert und mit gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, um die Enzyme und Eiweißstoffe niederzuschlagen. Der Niederschlag wurde auf Filtrierpapier im Exsikkator getrocknet und in kaltem abgekochtem Wasser aufgelöst. Mit dieser Lösung fanden verschiedene Versuche statt; Amidokörper fand man nicht, wohl aber Pepton. Das letzte Produkt der Eiweißverdauung bei *Drosera* ist Pepton. Die Menge des letzteren nimmt rasch zu, wenn der Extrakt in Berührung mit Fibrin einer erhöhten Temperatur ausgesetzt wurde. Es scheint also ein pepsinartiges Enzym vorzuliegen und nicht ein Zymogen. Spuren anderer Enzyme wurden nicht bemerkt. Die Blätter vermögen Peptone zu absorbieren. Die Verdauungsflüssigkeit der *Drosera*blätter enthält keine Bakterien.

Matouschek (Wien).

Meyer, K., Über Anti-Bakterienproteasen. (Biochem. Zeitschr. Bd. 32. 1911. p. 180.)

Beim Immunisieren von Kaninchen mit *Prodigiosus*- und *Pyocyaneus*protease entstehen anti-proteasenreiche Sera. Die Antiproteasen können ohne Schädigung auf 75° erhitzt werden, werden aber bei 85° geschwächt und bei 100° zerstört. Sie sind an die Globulinfraction des Serums gebunden. Eine Schwächung der Wirkung der Antiproteasen tritt ein, wenn die Sera mit Petroläther extrahiert werden. Das Danyszsche Phänomen wird bei der Absättigung des Antiferments durch Protease nicht beobachtet. Dabei tritt eine völlige Sättigung nicht ein, indem immer eine geringe verdauende Wirkung bleibt. Ein neutrales Protease-Antiproteasegemisch wird durch Erhitzen auf 100° wieder wirksam.

Emmerling (Hermesdorf.)

Lippmann, O. von, Ein Vorkommen von d-Galaktose. (Ber. d. chem. Ges. Bd. 43. 1910. p. 3611.)

Nach einem starken Nachtfrost fand Verf. an den Spitzen von *Epheu* eine weiße Substanz, welche zum größten Teil aus d-Galaktose bestand.

Emmerling (Hermesdorf.)

Takeuchi, T., Eine technische Anwendung der Urease. (Chemiker-Ztg. Bd. 35. 1911. p. 408.)

Urease kommt auch in Samen und Keimlingen mancher höheren Pflanzen vor, am reichlichsten in der Sojabohne. Von dem durch Alkoholfällung gewonnenen Rohenzym wird Harnstoff energisch, Biuret schwach, Guanidin, Arginin, Kreatin, Harnsäure und Allantoin nicht angegriffen. In Yokohama ist eine Fabrik entstanden, welche aus Harn durch Zusatz von Sojapulver Ammoniak darstellt und welche angeblich sehr vorteilhaft arbeitet.

Emmerling (Hermsdorf).

Pantaneli, E., e Bruschi D., Ricerche preliminari sulla secrezione dell'amilasi. (Annali di Botanica. VIII. 1910. p. 133—174.)

Aus den Versuchen der Verff. geht die Spezifität der Amylasen hervor, indem der Gang der Stärkeauflösung je nach der Herkunft der Amylase und der Stärke ganz verschieden ist. So führt *Mucor*-Amylase die Weizenstärke in Zucker schneller als Amylase aus *Penicillium* und *Aspergillus*, während *Botrytis*-Amylase eine viel größere Menge Stärke in Dextrin und wenig Zucker rasch umwandelt. In diesem Falle würde man nach der Kjeldahl-Lintzschen Methode schließen, daß *Botrytis* viel weniger Amylase enthält, als die übrigen Pilze. Alle auf einer Bestimmung des Endproduktes beruhenden Methoden müssen aufgehoben werden, denn die Versuche der Verff. zeigen, daß eine amyloextrinase Wirkung ohne Zuckerbildung ebenso wie eine dextrinoglukasische Wirkung ohne Stärkelösung vorhanden sein kann. Ferner wurde eine spezifische Anpassung der Amylase an neue Stärkesorten festgestellt.

Die vier genannten Pilze scheiden in der ersten Woche (bei 25° C) ein Stärke verflüssigendes und in Dextrin überführendes Enzym, welches hauptsächlich das Amylopektin des Stärkekornes angreift; etwas später erscheint ein dextrinoglukasisches Enzym in der Kulturflüssigkeit und etwa nach einer Woche wird ein Zymogen (Proamylase) in stark schwankender Menge aus dem Mycel ausgeschieden. Bei Gegenwart von Weizenstärke beginnt die Enzymsekretion früher als bei Gegenwart von Kartoffelstärke.

In der zweiten Woche erscheint eine echte Amyloglukase im Substrate, welche Stärkekleister in Zucker überführt und auch fremde Stärkesorten anzugreifen vermag; dieses Enzym scheint aber nur aus absterbenden Mycelzellen heraus zu diffundieren.

In der dritten Woche nimmt die Ektamylase stark zu, bald setzt aber eine Kondensationswirkung ein. Nach dem Absterben aller Mycelzellen und der Beendigung der Sporenbildung übt der Pilz keinen Einfluß mehr auf das Substrat aus, wo die Kondensationswirkung auch bei Stärkegegenwart eintritt und sich ein falsches, den weiteren Umsatz hemmendes Gleichgewicht einstellt. Die Hemmung kann in dicken Mehnteigen bei einem Gehalt an 5—7% ungelöster Stärke schon eintreten.

Kolloidhaltige Substrate absorbieren die Amylase und noch mehr die Proamylase, deren Ausscheidung eigentlich auf Diffusion aus absterbenden Zellen und nicht auf Sekretion beruht. Der lebende Pilz reguliert alle diese Vorgänge, so daß der Gesamteffekt beinahe gleich bleibt, aber auch nach Entfernung des Organismus neigen die Aktivierung des Proenzym, die Aktivität und Zersetzung des fertigen Enzyms und die Reversionswirkung zum Einstellen eines scheinbaren Gleichgewichtes.

Reversionswirkungen haben eine früher ungeahnte Bedeutung, indem sie schon nach verhältnismäßig geringer Stärkeauflösung in konzentrierten,

kolloidreichen Substraten einsetzen und die Amylasenwirkung hemmen oder richtiger maskieren.

Eine Anwendung der Theorie reversibler Reaktionen ist auf die Stärkehydrolyse unmöglich, sonst müßte man annehmen, daß in einem kolloidreichen, brei- oder teigartigen Substrate die verschiedenen Enzymwirkungen rein lokal auftreten.

P a n t a n e l l i (Rom).

Hamsik, A., Zur Kenntnis der Pankreaslipase. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 71. 1911. p. 238.)

Mittelst Glyzerin läßt sich aus frischem Pankreas die Lipase ausziehen, doch büßt sie durch Filtrieren viel von ihrer Wirksamkeit ein. Dagegen filtriert die aus getrocknetem Pankreas des Schweines gewonnene Lipaselösung klar durch Chamberlandfilter und ist sowohl für Fettspaltung wie für die Synthese sehr wirksam. Aus Glyzerin und Palmitinsäure synthetisiert sie das entsprechende Fett, wogegen sie gegen Stearinsäure nur wenig reagiert, etwas besser, wenn die Stearinsäure in Toluol gelöst ist. Buttersäureamylester entsteht leicht aus Buttersäure und Amylalkohol mittelst Pankreaspulver, dagegen zeigt es sich sehr wenig wirksam einem Gemisch von Buttersäure und Glyzerin gegenüber. Ölsäure und Glyzerin verbinden sich gut, Ölsäure und Aethylen- und Propylenglycol gar nicht. Neutrale Salze hemmen sowohl Fettspaltung wie Fettsynthese; auch Seifen verzögern, es sei denn, daß man nur Salzlösung zusetzt.

E m m e r l i n g (Hermsdorf.)

Kooper, W., Untersuchungen über die Katalase. (Milchwirtschaftl. Zentralblatt. 1911. p. 264—270.)

Zunächst wird in dieser Arbeit hervorgehoben, daß bei den verschiedenen Autoren in bezug auf die angegebenen Katalasezahlen keine oder nur geringe Übereinstimmung herrsche und daß, solange nicht einheitlich d. h. mit einem Apparat desselben Systems untersucht wird, die Angaben immer abweichen werden. Dann sind als Gründe für die Schwankungen die verschiedenartigen Zusammensetzungen der Milch selbst zu nennen, die einesteils durch die Boden-, Klima- und Fütterungsverhältnisse bedingt sind, vielleicht aber auch in der Rasse selbst liegen. Es erübrigt daher, als Hauptfaktoren die Unterschiede hervorzuheben, welche bei Anwendung verschiedener Katalaseapparate bei einer und derselben Milch ermittelt werden.

Sodann geht Verf. auf die Versuche über, welche er mit den zurzeit bekannten vier Katalaseprüfern mit derselben Milch anstellte, s. Tabelle I u. II, S. 267 und teilt hierbei auch die ermittelten Verhältniszahlen mit. Der Tabelle I liegen Untersuchungen mit frischer Vollmilch, der Tabelle II mit Buttermilch und der auf S. 268 beigefügten Tabelle III solche mit Milch von verschiedenen Schlägen zugrunde.

Als Ergebnis seiner Untersuchungen stellt Verf. die folgenden Sätze auf:

1) Es verhalten sich die mit den vier Konstruktionen nach K o n i n g , F u n k e , H e n c k e l und G e r b e r gewonnenen Durchschnittskatalasezahlen folgendermaßen:

$$K : F : H : G = 1 : 1,37 : 1,44 : 1,66.$$

2) Dieses Verhältnis gilt nur für die Katalase in frischer Vollmilch; für Rahm, Buttermilch, saure Milch usw. ist es ein anderes.

3) Die Rasse scheint einen Einfluß auf den Katalasegehalt der Kuhmilch auszuüben; die Resultate zeigen für B r e i t e n b u r g e r eine höhere Durchschnittskatalasezahl als für O s t f r i e s e n .

4) Möglichst steril gewonnene, durch Chloroform desinfizierte Milch zeigt einen sehr niedrigen Katalasegehalt, im Durchschnitt 0,66 cem Sauerstoff in zwei Stunden.

5) Der originäre Teil der Katalase der Kuhmilch ist daher der bei weitem kleinste, der bazilläre der überwiegende Teil.

6) Der Schmutzgehalt der Milch ist von großem Einfluß auf ihren Katalasegehalt, je reiner die Milch desto kleiner die Katalasemenge.

7) Die Katalase folgt dem Rahm nach physikalischen Gesetzen; beim Buttern bleibt sie in der Buttermilch zurück. Sie ist also kein integrierender Bestandteil des Fettes, nur ihr geringeres spezifisches Gewicht muß Ursache sein, daß sie beim Schleudern mit dem Rahm abgeschieden wird.

R u l l m a n n (München).

Grimmer, W., Bemerkungen zu der Arbeit von W. D. Kooper, Untersuchungen über Katalase. (Milchwirtsch. Zentralbl. Bd. 7. 1911. p. 314—316.)

Verf. weist darauf hin, daß K. seine Prüfungen der verschiedenen Katalase-Apparate insofern auf einer ungeeigneten Basis durchführte, als er das ungenaueste Instrument (das von K o n i n g benutzte, aber nicht erfundene, Gärkölbchen) als Maßstab in Anwendung brachte. Vergleicht man die für H e n k e l s und F u n k e s Apparat ermittelten Zahlen untereinander, so ergibt sich völlige Übereinstimmung. Weshalb G e r b e r - L o b e c k s „Katalaser“ höhere Werte liefert, kann vorläufig nicht gesagt werden; mit Rücksicht auf die Übereinstimmung der beiden anderen Apparate ist er aber wohl nicht ohne weiteres als der genauere anzusehen. L ö h n i s Leipzig.)

Kossowicz, A., Einführung in die Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe. VIII u. 138 p. Mit 5 Taf. u. 21 Textabb. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1911.

Das Buch ist im Untertitel charakterisiert als „Kurzer Grundriß zum Selbststudium und zum Gebrauche für Ärzte, Gärungschemiker, Käser, Konservenfabrikanten, Landwirte, Militärintendanten, Militärverpflegsbeamte, Molkereibakteriologen, Molkereischüler, Nahrungsmittelchemiker, Pharmazeuten, technische Chemiker und Tierärzte.“

Die erste Abteilung bringt in möglichster Kürze (auf 28 Seiten) das Wichtigste über die Mikroflora der Nahrungsmittel, über die Züchtung der Mikroorganismen und über die Haltbarmachung der Nahrungsmittel. Auf zwei Tafeln und in 10 Textabbildungen sind die charakteristischsten Bakterien- und Pilzformen reproduziert.

In der zweiten Abteilung werden (auf 44 Seiten) Zersetzung und Haltbarmachung von Milch und Butter sowie die Mykologie der Käsefabrikation behandelt. Eine zu diesem Abschnitt gehörige Tafel zeigt Photogramme von *Bac. mesentericus niger* aus Roquefort-Käse und von Buttersäurebazillen aus dem Milchpräparat Laktomaltose.

In der dritten Abteilung folgen (auf 13 Seiten) Darlegungen über die Zersetzung und Haltbarmachung von Fleisch und Eiern. Die vierte Abteilung umschließt (auf 28 Seiten) die Besprechung der Fäulnis und Haltbarmachung von Gemüse und Obst; auf den hierzu gehörigen Tafeln finden sich Photogramme von Plattenkulturen aus in Schaumgärung befindlichem Gurken- bzw. Perlwiebelssaft, sowie Abbildungen von durch *Mucor* zersetzten Pfirsichen und eines farbstoffbildenden Stäbchens aus faulen Pfirsichen.

Die Mykologie der Bäckerei, der Zuckerfabrikation und der Tierfuttermittel gelangt in der letzten (fünften) Abteilung zur Besprechung.

Die Literaturverweise sind am Schlusse des Buches auf 10 Seiten zusammengestellt; ferner ist ein ebenfalls 10 Seiten umfassendes Sachregister beigegeben.

Zweifellos wird diese kurze „Mykologie der Nahrungsmittel“, der eine ähnliche „Mykologie der Genußmittel“ folgen soll, in den hierfür in Betracht kommenden Kreisen viel Nutzen stiften können. Wenn auch selbstverständlich die Handbücher von L a f a r und dem Referenten ausgiebig benutzt wurden, so setzte doch eigene, durch Unterricht und Forschung erworbene Erfahrung den Verf. in den Stand, etwas Originales und, wie gesagt, für den oben umschriebenen Leserkreis entschieden recht Geeignetes zu schaffen. Die von L a f a r übernommene Literatur-Anordnung, die den Autor zwingt, alle Namen im Text anzugeben, bedingt allerdings eine gewisse Trockenheit des Stiles, doch ist dieser andererseits durch Klarheit und Übersichtlichkeit ausgezeichnet, was besonders beim Nachschlagen angenehm hervortritt.

L ö h n i s (Leipzig).

Carbone, D. e Rusconi, M., Sulla scissione dell'acido ippurico per opera dei microorganismi dei salumi. (Boll. Soc. med. Pavia. 15. V. 1910.)

Aus verschiedenen Würsten wurden 17 Bakterienarten isoliert, darunter bildete keine Art Hippursäure in Bouillonkultur, wohl aber wurde von einigen Arten die zugesetzte Hippursäure unter Benzoësäurebildung angegriffen. Aus den fraglichen Würsten wurden auch Schimmelpilze (*Hormodendron*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Sterigmatocystis*, *Eurotium*, *Citromyces*) isoliert; einige unter diesen Pilzen bildeten Hippursäure auch in Bouillonkultur; *Aspergillus fumigatus* und eine *Penicillium*-Rasse griffen Hippursäure unter Benzoësäurespaltung an. Der Nachweis von Benzoësäure zur Erkennung von hippursäurehaltigen Materialien in der Wurst ist unzulässig.

P a n t a n e l l i (Rom).

Kayser, E. et Delaval, H., Contribution à l'étude du pain visqueux. (Compt. rend. hebd. de l'Acad. des scienc. Paris. T. 153. 1911. p. 576—578.)

Aus schleimigem Brot wurde eine *Mesentericus*-Varietät isoliert, deren morphologische und physiologische Merkmale geschildert werden. Die bekannten Gegenmittel (Säurezusatz und kühle Aufbewahrung) bewährten sich auch in diesem Falle bei der Bekämpfung der Brotfehler. Das Auskeimen der Sporen wurde verhindert, wenn die Backdauer der mit ca. 2 g Milchsäure pro kg versetzten Brote auf 30—45 Minuten (bei 250—500, resp. 1000 g Brotgewicht) bemessen wurde. Das häufige Vorkommen schleimiger Brote im Sommer 1911 wird zurückgeführt auf den Keimreichtum des 1910er Mehles, auf schlechte Hefen und auf die abnorm hohe Sommertemperatur 1911. Zur Reinigung der benutzten Gerätschaften wird kochendes angesäuertes Wasser empfohlen.

L ö h n i s (Leipzig).

Kossowicz, A., Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie. VIII + 211 pp., 2 Taf. u. 50 Textabb. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1911. geh. 6 Mk., geb. 7 Mk.

Das Buch bildet ein Seitenstück zu der kürzlich erschienenen „My-

kologie der Nahrungsmittel“ desselben Verf.¹⁾ In elf Kapiteln werden erörtert: 1) Die alkoholische Gärung und die Biosfrage, 2) die Systematik der Saccharomyceten, 3) die Mykologie der Bierbrauerei, 4) der Brennerei, 5) der Rum- und Arrakfabrikation, 6) der Preßhefefabrikation, 7) der Weinbereitung, 8) der Essigfabrikation, 9) der Senffabrikation, 10) der Kakao-, Kaffee-, Tee- und Vanille-Fermentation, 11) der Tabakfermentation. Die am Schlusse des Buches zusammengestellte Literatur umfaßt 24 Druckseiten, auf das Sachregister entfallen 15 Seiten.

Verschiedene, bisher nicht veröffentlichte Beobachtungen des Verf.'s (betr. Keimgehalt des Darrmalzes und des Tabaks, Studien an *Saccharomyces validus*, *exiguus*, Rosahefe u. a.) fanden Aufnahme. Die ebenfalls durch die Untersuchungen des Verf.'s geförderte Mykologie der Senffabrikation wird zum ersten Male im Zusammenhange behandelt.

Im ganzen kann über das vorliegende Buch ähnliches gesagt werden wie über die „Mykologie der Nahrungsmittel“. Wie diese wird es überall da gute Aufnahme finden und manchen Nutzen stiften können, wo die umfangreicheren Werke, speziell die betreffenden (vielleicht auch wirklich einmal zum Abschluß gelangenden) Bände des L a f a r 'schen „Handbuches“ seltener zu Rate gezogen werden. Die Ausstattung läßt kaum etwas zu wünschen übrig; nur wären die Tafeln wohl besser an anderer Stelle unterzubringen gewesen, damit sich nicht zwischen sie und den Text Bücheranzeigen hätten einschieben können.

L ö h n i s (Leipzig).

König, J., Kuhlmann, J. und Thienemann, A., Die chemische Zusammensetzung und das biologische Verhalten der Gewässer. (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmitt. Bd. 22. 1911. p. 137).

Nach Aufführung eines Teiles der einschlägigen Literatur und bekannter Tatsachen kommen die Verff. zu folgenden Schlüssen: Die neueren Untersuchungen bestätigen die bekannten Beziehungen zwischen chemischer Zusammensetzung und biologischem Verhalten der Gewässer z. B., daß die Fliege *Ephydra riparia* als ein Leitorganismus für Salzwässer, *Sphaerotilus*, *Beggiotea* und Tubificiden als Leitorganismen für stark mit organischen Stoffen verunreinigte, bzw. faulige Wässer anzusehen sind. Ein neuer, in der Emscher aufgefundener Pilz, dessen Untersuchung nicht vollständig ist, kann vielleicht als Leitorganismus für mit organischen und anorganischen Stoffen verunreinigtes Wasser betrachtet werden. Es wird mit Recht auf den Irrtum hingewiesen, daß die biologische Untersuchung allein für die Beurteilung eines Wassers genüge. E m m e r l i n g (Hermsdorf).

ReiB, A., Studien über die Bakterienflora des Mains bei Würzburg in qualitativer und quantitativer Hinsicht. (Verhandl. d. Physik. Medicin. Gesellsch. Würzburg. Bd. 41. Nr. 7. 43 pp. 2 Taf.)

Dem Verf. wurde von Prof. Dr. L e h m a n n in Würzburg die Aufgabe gestellt, 1. die im Main vorkommenden Arten von Bakterien zu ermitteln, und 2. die Abhängigkeit der Bakterienflora in ihrer quantitativen und qualitativen Zusammensetzung von Lokalität, Wasserstand und Jahreszeit festzustellen.

¹⁾ Vorstehend referiert.

Das Material der Untersuchungen schöpfte Verf. an zwei oberhalb und drei unterhalb der Stadt Würzburg gelegenen Stellen.

Die Keimzählungen der verschiedenen Proben zeigen deutlich eine weit größere Häufigkeit an Keimen, das 14-fache, in dem Wasser unterhalb als oberhalb der Stadt. Diese Keimvermehrung steht unter dem Einfluß eines in den Fluß mündenden Sammelkanals für Abwässer. Nur 3 km weiter unterhalb dieser Einmündungsstelle war die Keimzahl bereits bedeutend zurückgegangen, es fand sich hier nur noch das 3,7-fache der Zahl oberhalb Würzburg. Eine starke Zunahme der Keime konnte Verfasser bei Hochwasser konstatieren, es ergab sich ungefähr das 100-fache der Zahlen des normalen und niedrigen Wassers. Für diesen Punkt der Untersuchungen liegen leider nicht genügend vergleichbare Werte vor.

Als Hauptaufgabe hat Verf. die Bestimmung der Arten betrachtet, indem er der Erkenntnis folgt, daß wichtiger als die Feststellung der Keimzahlen für die hygienische Beurteilung des Flußwassers die Bestimmung der Arten der in ihm lebenden Bakterien ist. Die folgenden 73 Arten wurden beobachtet, die mit einem Stern versehenen stimmten nicht völlig mit den vorliegenden Diagnosen überein und werden in ihren Abweichungen besonders beschrieben; die gesperrt gedruckten wurden bisher kaum oder nur vereinzelt im Flußwasser angetroffen:

Streptococcus pyogenes, *Sarcina flava*, *S. lutea*, *S. aurantiaca*, *S. cervina*, *Micrococcus candicans*, *M. rosettaceus*, *M. concentricus*, *M. viticulosus*, *M. pyogenes albus*, *M. pyogenes albus* (*Diplococcus*), *M. coronatus*, *M. corallivides*, *M. radiatus*, *M. luteus*, *M. flavus*, *M. sulfureus*, *M. badius*, *M. pyogenes aureus*, *M. aurantiacus*, *M. roseus*, *M. cerasinus*, *Bacterium septicaemiae haemorrhagicae**, *B. pseudotuberculosis rodentium**, *B. lactis viscosi**, *B. acidilactici*, *B. coli*, *B. coli* var. *albido liquefaciens*, *B. alkaligenes*, *B. disciformans**, *B. salmonicida* (a), *B. salmonicida* (b)*, *Bac. devorans* (Zimmermann), *B. punctatum*, *B. turcosum*, *B. cremoides**, *B. luteum*, *B. helvolum*, *B. ochraceum**, *B. fulvum**, *B. chrysogloea**, *B. lactericium*, *B. violaceum*, *B. anthocyaneum**, *B. fluorescens**, *B. putidum*, *B. brunificans*, *B. ferrugineum*, *B. Zopfii**, *B. vulgare**, *B. Zenkeri*, *B. murisepticum**, *Bacillus mycoides*, *B. mycoides radicosus*, *B. sphaericus*, *B. robur*, *B. ruminatus*, *B. simplex*, *B. subtilis*, *B. luteus*, *B. parvus*, *B. silvaticus*, *B. Petasites*, *B. vulgatus*, *B. mesentericus*, *B. teres*, *B. mesentericus ruber*, *B. liodermos*, *Actinomyces chromogenes alba*, *A. thermophilus**, *A. chromogenus*.

Eine ausführliche Beschreibung gibt Verf. von *Bacterium anthocyaneum*. Dieses Bakterium zeigte auf Kartoffelkulturen eine auffällige grünlichgraublaue Färbung und war nach seinem ganzen Verhalten als eine neue Art aufzufassen, die Verf. nach dem Vorschlag von Lehmann wegen der Ähnlichkeit ihres Farbstoffes mit dem Anthocyan *B. anthocyaneum*, Lehm. u. Reiß benannte.

Die Zahl der oberhalb Würzburg festgestellten Arten beträgt 44. Unterhalb der Stadt kommen noch 18 andere Arten durch den Sammelkanal hinzu. 11 Arten fanden sich nur im Hochwasser und zwar wurden die meisten von diesen oberhalb wie unterhalb gefunden, sie kommen also sicher durch Aufwühlung des Erdbodens ins Flußwasser.

Verf. versuchte die relative Häufigkeit der einzelnen Arten zu bestimmen. Seine Resultate konnten jedoch nur aus noch nicht ausreichendem Beobachtungsmaterial gezogen werden, ergeben immerhin bereits einige bemerkenswerte Feststellungen. Mit 50 % aller Kolonien waren die Bakterien vertreten,

B. punctatum war unter diesen bei weitem am häufigsten. Die Mikrokokken machten 30% sämtlicher Kolonien aus, *M. rosettaceus* steht unter ihnen an erster Stelle. Den Rest von 20% nahmen die aëroben Bazillen ein mit *Bac. parvus* und *mesentericus* in gleicher Häufigkeit.

Oberhalb der Stadt fanden sich hauptsächlich:

B. salmonicida (a) und *B. punctatum*, dann *B. Zopfii*. Dicht unterhalb der Einmündung des Sammelkanals: *B. salmonicida* (a), *B. punctatum*, *B. acidilactici*, *Bac. devorans*, dann *B. salmonicida* (b), *B. Zopfii* und *Bac. parvus*. Weitere 3 km unterhalb: *B. salmonicida* (a), *B. punctatum*, *B. Zopfii*, *B. septicaemiae haemorrhagicae*, *B. salmonicida* (b), *M. radiatus* und *B. chrysogloea*.

Zum Schlusse bringt Verf. noch die Ergebnisse einer besonderen quantitativen und qualitativen Untersuchung auf *B. coli*. Es fanden sich oberhalb der Stadt bereits ziemlich zahlreiche *Coli*-Kolonien, die jedoch unterhalb eine Vermehrung auf das 3—15-fache erfahren. Verf. stellte fest, daß die von ihm gefundenen Wasser-*Coli* mit den Darm-*Coli* identisch waren.

Eddelbüttel (Göttingen).

Müntz, A. et Lainé, E., Sur les pertes de l'azote au cours de l'épuration de l'eau par les lits bactériens. (Compt. rend. hebd. de l'Acad. d. scienc. Paris. T. 152. 1911. p. 822—826.)

Müntz, A. et Lainé, E., Les phénomènes d'épuration des eaux d'égout par le sol et par les lits bactériens. (Compt. rend. hebd. de l'Acad. d. scienc. Paris. T. 152. 1911. p. 1204—1208.)

In der ersten Arbeit wird nachgewiesen, daß bei der Abwasserreinigung in den Filterkörpern fast stets sehr bedeutende Stickstoffmengen (oft 50—70%) in Verlust geraten. Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen der Größe dieser Verluste und der Menge der vorhandenen organischen Substanzen. Fehlt es an diesen, so wird das Ammoniak restlos nitrifiziert. Von absichtlich zugesetztem Nitratstickstoff verschwanden (infolge Denitrifikation) nur 14,9 bis 23,5 %. Der Hauptverlust wird demnach durch jene Stickstoffentbindung verursacht, die bei lebhafter Oxydation der organischen Verbindungen oder des Ammoniaks Platz greift¹⁾. Überführung des Nitratstickstoffs in organische Form oder in Ammoniak konnte bei der im Filterkörper bestehenden intensiven Oxydation nicht bemerkt werden, desgleichen war in diesem Falle bei der Denitrifikation ein intermediäres Auftreten von Nitrit nicht wahrzunehmen; nur bei Luftabschluß tritt die Nitritbildung deutlich hervor.

In der zweiten Arbeit wird untersucht, ob sich im Boden der Rieselfelder ähnliche Prozesse abspielen wie in den biologischen Körpern oder nicht. Je ca. 500 kg Erde wurden in zwei großen, galvanisierten Eisenblechbehältern in 1 m hoher Schicht aufbewahrt und das eine Gefäß allwöchentlich berieselt. Der Versuch dauerte 6½ Monate, die gesamte Wassermenge entsprach 40 000 cbm pro ha und Jahr. Durch Bestimmung des Stickstoffs im Riesel- und im Sickerwasser, sowie im Boden am Anfange und am Schlusse des Versuches wurden vollständige Stickstoffbilanzen erhalten. Die Verff. verbreiten sich ausführlich über die Schwierigkeiten genauer Erdstickstoff-Analysen; für ihre Versuche glauben sie den Fehler auf nur 0,58 % des Gesamtstickstoffs festsetzen zu können. Die Endzahlen für die beiden Gefäße sind folgende:

¹⁾ Vgl. hierzu auch die früheren Mitteilungen derselben Autoren in den Comptes rendus. Vol. 146. 1908. p. 53 (Stickstoffverluste bei der Nitrifikation in Torf).

A) im berieselten Gefäß:

Zugeführt	Wiedergefunden
Erd-Stickstoff anfangs 664,362 g	Erd-Stickstoff am Ende . 670,182 g
N in Riesel- und Regenwasser . . 67,686 g	N im Drainwasser . . . 50,838 g
zusammen: 732,048 g	zusammen: 721,020 g
	Verlust: 11,028 g

B) im nicht berieselten Gefäß:

zugeführt	wiedergefunden
Erd-Stickstoff anfangs 668,266 g	Erd-Stickstoff am Ende . 658,207 g
N im Regen 0,298 g	N im Drainwasser . . . 10,543 g
zusammen: 668,564 g	zusammen: 668,750 g
	Gewinn: 0,186 g

Während die Änderungen der Stickstoffwerte im zweiten Falle völlig innerhalb der Fehlergrenzen liegen, ist der Verlust im ersten Gefäß nach Ansicht des Verf. sicher nachgewiesen. Da der Erdstickstoff keine Abnahme zeigt, wird angenommen, daß die verloren gegangenen 11,028 g dem im Rieselwasser zugeführten Stickstoff (67,388 g) entstammen, was einem Verlust von 16,36% (gegen ca. 60 % in den Filterbetten) entspräche. Während also im biologischen Körper die unter Stickstoffentbindung verlaufende Oxydation vorherrscht, steht im Rieselfeldboden die Nitrifikation an erster Stelle.

L ö h n i s (Leipzig.)

Currie, J. R., Experiments in the storage of river waters. (Journ. Roy. Instit. of Public Health. 1911. p. 214.)

Aus den Versuchen des Verf.s geht hervor, daß die Zahl der Fäkalbakterien im Wasser durch Ablagerung (Stehenlassen des Wassers) vermindert wird. Das Sonnenlicht beschleunigt diesen Prozeß der Bakterienabnahme, dagegen schien das diffuse Tageslicht eine solche Wirkung nicht auszuüben. Für die Vernichtung der Fäkalbakterien erwies sich ein Stehenlassen des Wassers bei 39° wirksamer als bei Zimmertemperatur; es gelingt auf diese Weise, mäßig verunreinigtes Wasser soweit zu reinigen, daß Fäkalbakterien in 1 ccm des Wassers nicht mehr nachzuweisen sind.

H. D o l d (Straßburg).

Mensio, C., Il Moscato d'Asti spumante. II. (Stazioni speriment. agrarie. 43. 1910. p. 797—913.)

Bei der Gärung des Moscato d'Asti spumante hat die recht langsame Kohlensäureentwicklung aus unvergorenem Most-Zucker in der Flasche die Hauptbedeutung. Eine solche jahrelang verzögerte Flaschengärung wird durch eine kurz nach dem Keltern schnell durchgeführte Stickstoff- und Hefenentziehung mittelst wiederholter Klärung und Filtration ermöglicht. Dagegen versuchte R. M e i ß n e r (1906) nachzuweisen, daß die Verlangsamung der Flaschengärung, wodurch der Asti spumante seinen eigentümlichen Charakter erwirbt, von Phosphorsäure- und Kalimangel bedingt wird.

Nach Verf. ist aber nur Stickstoff in ungenügender Menge vorhanden, was keineswegs von einer Stickstoffarmut des Muskatmostes herrührt, sondern durch die rasche Klärung und Filtration künstlich erreicht wird.

Ferner bringt die umfangreiche Abhandlung des Verf. eingehende chemische und zymologische Untersuchungen über verschiedene Muskatweine und -moste, über den Einfluß verschiedener Mineralbestandteile und Stickstoffquellen, der Reinhefenanwendung, des Kohlensäuredruckes, der Temperatur, der Form des Gärungsgefäßes usw. auf den Gang der Faß- und Flaschengärung dieses natürlichen Schaumweines.

P a n t a p e l l i (Roma.)

Haid, R., Die Vorteile der Reinhefe bei der Vergärung von stark geschwefeltem Most. (Allgem. Weinzeitung. 1911. Nr. 27.).

In der Praxis der Kellerwirtschaft kommt es häufig vor, daß Moste zu stark geschwefelt werden, sodaß dann die spontane Gärung verzögert wird oder überhaupt nicht stattfindet. Verfasser stellt Versuche an, welche die Vorteile des Reinhefezusatzes auch bei geschwefelten Mosten und Weinen beweisen. Sowohl Laboratoriumsversuche, wie auch im großen im Keller ausgeführte beweisen, daß bei Reinhefezusatz erst bei 200 mg schwefeliger Säure pro l eine deutliche Verzögerung in der Gärtätigkeit eintritt. Sobald aber die Gärung einsetzt, verläuft sie völlig normal, nie schleppend. Ohne Reinhefezusatz gelingt das bei so hohem Gehalt an schwefeliger Säure nicht, denn die gewöhnlichen Hefen sind gegen schwefelige Säure viel weniger widerstandsfähig, als die vom Verf. untersuchten Reinhefen (Rasse Steinberg, Rasse Sherry, Rasse Gumpoldskirchen, Rasse Verzenay) der Most kann dann durch Bildung von Kahlhefen usw. zugrunde gehen. Bei starker Einschwefelung mußte der Reinhefezusatz von 1%, wie gewöhnlich, auf 2% erhöht werden, um eine vollständige Vergärung zu erzielen. K. Müller (Augustenberg).

Doidge, Ethel M., The flora of certain Kaffir beers „Leting and Joala“. (Transvaal Depart. of Agric. Science Bull. 1910. No. 5. 4 pp.)

Die Eingeborenen Südafrikas bereiten oft aus *Andropogon Sorghum* Brot, alkoholische Getränke diverser Art. Verf. untersuchte letztere auf die Mikroorganismen und Schimmelpilze, und fand *Mucor Rouxii*, eine dem *Bacterium Güntheri* nahestehende Art und eine Hefe. Die Arten wurden beschrieben und hübsch abgebildet.

Matouschek (Wien).

Marcas, L. et Huyge, C., Origine de l'ammoniaque dans le lait. Interprétation de sa présence. (Revue génér. du lait. T. 8. 1911. p. 481—486.)

Nach der von Trillat und Sauton angegebenen Methode wurden 38 Handelsmilchproben aus verschiedenen belgischen Orten auf Ammoniak-Anwesenheit geprüft. 18 gaben ziemlich bis sehr starke Reaktion. Es wird bestätigt, daß frische Milch gesunder Kühe ammoniakfrei ist und bis zur Gerinnung auch so bleibt.

Ammoniak kommt also in Milch nur bei ungeeigneter Gewinnung und Behandlung vor. Als Produkt der Fäkalbakterien ist es dann meist nach 10 Stunden deutlich nachweisbar. Außerdem kann es direkt aus Stallluft aufgenommen werden. In einem relativ sauberem Stall aufgestellte Milch gab nach 30 Minuten deutliche Reaktion; die Luft enthielt 0,340 g Ammoniak im Kubikmeter.

Der Ammoniaknachweis ist also für die hygienische Milchprüfung von Wichtigkeit. Trinkmilch sollte stets ammoniakfrei sein.

Löhnis (Leipzig).

Gutzeit, Ernst, Über die angebliche Vermehrung der Bakterien in der Milch durch mechanische Einwirkung. (Milchwirtsch. Centralbl. 1911. p. 193—211.)

In der bakteriologischen Literatur findet sich öfter die Angabe, daß anstatt der Verminderung des Bakteriengehaltes in der Kuhmilch, wie sie durch Filtrieren und Zentrifugieren herbeigeführt werden mußte, bisweilen

eine sehr starke Vermehrung festzustellen ist, ohne daß Verunreinigung von außen die Ursache sein kann.

Als Erklärung wird angegeben, daß viele Keime in der unbehandelten Milch zu Knäueln verklebt seien und diese bei der Aussaat auf Gelatineplatten nur je eine Kolonie hervorgehen lassen, daß hingegen durch die Erschütterung des Filtrierens und Zentrifugierens die Knäule zerteilt und so eine scheinbare Vermehrung der Keimzahl erzielt würde.

Eine andere Erklärung, die an die molekularphysiologische Gärungstheorie Nägelis und an Meltzers Lehre von der Erschütterung als Lebensfaktor anknüpft, nimmt an, daß durch die mechanische Behandlung der Milch die Teilung der Spaltpilze gewissermaßen gewaltsam beschleunigt würde. Ref. hat nun die einschlägigen Versuche von Dunbar und Severin nachgeprüft, aber weder durch Filtrieren, Zentrifugieren noch Schütteln von Milch an sich eine bemerkenswerte Steigerung der Bakterienzahl erzeugen können, wenn dafür Sorge getragen wurde, die nicht filtrierten, zentrifugierten und geschüttelten Kontrollproben ebenso lange bei derselben Temperatur zu halten wie die eigentlichen Versuchsproben.

Die Dunbar- und Severinschen Versuche finden somit ihre einfache Erklärung dahin, daß diese Vorsicht außer Acht gelassen worden und die vor und nach Behandlung der Milch erhaltenen Zahlen miteinander verglichen wurden ohne Rücksicht darauf, daß sich die Keime während des Filtrierens, Zentrifugierens oder Schüttelns durch Teilung vermehrt hatten.

Diese Feststellung erscheint wichtig, wenn es sich darum handelt den bakteriellen Reinigungseffekt eines Milchfilters oder einer Milchzentrifuge zu studieren.

A u t o r e f e r a t.

Prof. O., Beitrag zur Milchversorgung großer Städte.

(Der Tierarzt. Bd. 50. 1911. p. 233—241.)

150 Milchproben aus 56 Bezugsquellen in Cöln wurden untersucht. Sie stammen I. von 8 Großproduzenten, II. von 23 Kleinproduzenten, III. von 2 Großhändlern (Meiereien), IV. von 16 Kleinhändlern, V. aus 6 sogen. Sanitätsmolkereien oder Säuglingsmilchanstalten, VI. aus einer klinischen Lehranstalt, welche die Milch von einem Händler erhält. Über die Zahl der Proben in den einzelnen Gruppen sowie über deren Schmutz-, Keim- und Leukozytengehalt orientiert die folgende Zusammenfassung der im Original enthaltenen detaillierten Angaben:

Her- kunft	Zahl der Proben	Proben mit viel Schmutz	Keimgehalt	Proben mit	
				Strepto- kokken	Leuko- zyten
I	27	5	236 000— > 5 000 000, 7mal > 1 000 000	11	2 (2—3°/oo)
II	32	7	94 000— > 5 000 000, 9mal > 1 000 000	5	1 (7°/oo)
III	9	5	4mal 2—3 000 000	1	
IV	25	3	13mal > 1 000 000	5	
V	31	—	meist ca. 50 000, Maximum 124 000	1	
VI	11	—	stets > 1 000 000, einige > 5 000 000	4	4

In den Proben der I. Gruppe wurden einmal säurefeste Bakterien gefunden, die aber nicht Tuberkelbazillen waren. Diese fanden sich jedoch in einer Milch der Gruppe V. Streptokokken waren insgesamt in 38% der Proben nachweisbar; diejenigen in der Milch der einen Säuglingsmilchanstalt (V) zeigten sich für kleine Versuchstiere deutlich pathogen. Auch der Bodensatz aus der

von der Anstalt in erhitztem Zustande gelieferten Milch wirkte noch stark toxisch. Krankheits- und Todesfälle bei Säuglingen werden mit dieser Milch in Zusammenhang gebracht. Sie entstammte zwei mit Mastitis behafteten Kühen eines der Anstalts-Lieferanten.

Verf. fordert regelmäßige bakteriologische Untersuchungen der Marktmilch auf Grund polizeilicher Vorschriften. Die gesamte Milchkontrolle wäre nach seiner Meinung ausschließlich von Tierärzten zu erledigen.

L ö h n i s (Leipzig.)

Grimmer, W., Zur Kenntnis der Milchperoxydase (Milchwirtsch. Zentralbl. Bd. 7. 1911. p. 395—402.)

Mit Rücksicht auf die von A. Hesse und Kooper¹⁾ aufgestellte Behauptung, daß die sogen. Peroxydase-Reaktion der Milch durch deren alkalische Reaktion bedingt sei, prüfte Verf. eine Reihe von Substanzen in ihrem Verhalten gegen Guajaktinktur, Guajakol, Paraphenylendiamin und Rothenfußers Reagens. Verschiedene Salze rufen Blaufärbung der Guajaktinktur hervor; ihre Reaktion ist jedoch nicht alkalisch. Formalin wirkt ähnlich. Eine „Reaktivierung“ des Enzyms in erhitzter Milch durch Formalinzusatz, wie sie von Seligmann angenommen wurde, scheint darnach nicht vorzuliegen. Je intensiver die Milch erhitzt worden war, umso schwächer trat die durch Formalin oder Ammoniak verursachte Bläuung der Guajaktinktur hervor. Verf. behält sich vor, über dieses Phänomen, das eventuell eine Beurteilung der Dauer und Stärke der Milcherhitzung gestattet, eingehendere Untersuchungen folgen zu lassen.

Weiter wurde nachgewiesen, daß die oxydierende Wirkung der rohen Milch weder durch anorganische Katalysatoren, noch durch alkalische Reaktion bedingt ist, sondern durch ein Enzym, das von anderen Bestandteilen organischer Art nicht völlig befreit werden konnte. Aus dem Labserum kann es zusammen mit dem Albumin durch Aussalzen mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gefällt werden. Wahrscheinlich ist die Peroxydase, wenn auch nicht eine Funktion des Milchalbumins, so doch eines diesem sehr nahestehenden, bisher unbekannten Körpers. Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse stimmen für Peroxydase und Milchalbumin überein; jede Denaturierung des Albumins (durch Alkohol, Aceton, Chloroform etc.) zerstört auch das Enzym.

Über die Herkunft des Enzymes läßt sich nichts Sicheres sagen. Das Blut kann nicht in Frage kommen, weil es keine Peroxydase enthält. Entweder handelt es sich um einen in der Drüsenzelle gebildeten, dem Albumin ähnlichen Eiweißkörper oder um eine leicht vom Albumin adsorbierbare Substanz.

L ö h n i s (Leipzig.)

Babcock, S. M., Über die Anwendung niedriger Temperaturen bei der Behandlung von Käse und bei dessen Aufbewahrung. (2. internationaler Kältekongreß in Wien, 6. bis 12. Okt. 1910. Beiblatt z. Tagesprogramm.)

In diversen Versuchsstationen der Vereinigten Staaten wurden diesbezügliche Versuche in Menge angestellt. Es zeigte sich, daß kein bitterer Geschmack hervorgerufen wird, im Gegenteil, die Schmeckhaftigkeit wird erhöht. Da Mikroorganismen abgetötet werden, so erschienen gewisse Eigenschaften der Käsesorten nicht z. B. es fehlen im Schweizerkäse die Löcher, Limburger Käse hat einen anderen Geschmack, Roquefort wird nicht schwammig. So-

¹⁾ Hesse u. Kooper, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 21. 1911. p. 385—393.

bald aber diese Käsearten ihre besonderen Eigenschaften erlangt haben, können sie durch Kälte länger erhalten werden in guter Weise als bei gewöhnlicher Temperatur.

M a t o u s c h e k (Wien.)

Gironcourt, G. de, Sur le fromage de Touareg. (Compt. rend. hebdom. de l'Acad. des sciences Paris. T. 153. 1911. p. 191—194.)

Die Tuaregs am mittlern Niger, die sich vorwiegend von Milchspeisen ernähren, bereiten im August und September einen Käse, der lange aufbewahrt werden kann. Der Verdauungstraktus junger Gazellen dient zur Dicklegung der Milch. Stellenweise werden auch die Blätter des „Kururu“ genannten Baumes hierzu benutzt. Nach dem Abtropfen wird die Masse durch tägliches Wenden getrocknet, was an der Sonne etwa 10, am Feuer 6 Tage in Anspruch nimmt; am Feuer wird der Käse besser. Die Milch wird nicht entrahmt, Salz wird nicht hinzugefügt. Form und Größe wechseln. Die Käse werden in kleinen Stücken gekochten Speisen zugesetzt. Die chemische Analyse des braunen Käseteiges lieferte folgende Prozentzahlen:

Wasser	Stickstoff- haltige Substanz	Lösliche N-haltige Substanz	Ammoniak	Fett	Asche	Flüchtige Fettsäuren	Milch- säure
8,90	38,59	1,77	0	36,0	3,94	0	5,08

Auf den löslichen Stickstoff entfallen nur 4,5% des Gesamtstickstoffs. Es findet also kaum irgendwelche Stickstoffumsetzung statt.

Durch Eintragen kleiner Teigstückchen in Pepton-Glyzerin-Glukose-Bouillon wurden (von Heim und Sartory) gezüchtet: *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium glaucum*, *Oidium lactis*, *Cryptococcus glutinis*, *Bacillus subtilis* und *Microc. prodigiosus*. Bei der Reifung des Käses spielen diese Organismen wahrscheinlich keine bedeutende Rolle. Eine aktive Beteiligung ist noch am ehesten für *Mucor racemosus* sowie *Oidium lactis* anzunehmen, die am häufigsten gefunden wurden.

Verf. bespricht weiter die Bedeutung des Käses für die in Betracht kommenden Gebiete. Seine Meinung, daß eine ähnlich weitgehende Austrocknung von keinem anderen Käse bekannt sei, ist nicht ganz zutreffend. In Tibet bereitet man einen Ziegenmilchkäse, der ebenfalls im Backofen oder an der Sonne getrocknet wird. Er muß vor dem Gebrauch zersägt und 1—2 Tage in lauwarmem Wasser aufgeweicht werden¹⁾.

L ö h n i s (Leipzig).

Schöne, Albert, Über eine starke Zersetzung eines Rübenroh Zuckers. (Die Deutsche Zuckerind. Jg. 36. 1911. p. 247.)

Ein von Hamburg nach England verschiffter, nicht ganz gesunder Rohzucker hatte innerhalb von vier Wochen eine ungewöhnlich starke Zersetzung erfahren, indem der Zuckergehalt von 95,22 auf 92,18 Proz. zurückgegangen und der Invertzuckergehalt von 0,18 Proz. auf 2,22 Proz. gestiegen war. Der Rohzucker der Hamburger Probenahme enthielt außer den sich gewöhnlich im Rohzucker findenden Keimen hauptsächlich Fäulnisbakterien und Schimmelpilze, im ganzen etwa 3000 Organismen in einem Gramm Zucker. Ein ganz anderes Bild ergab jedoch die bakteriologische Untersuchung der englischen Probenahme. Auf Zuckergelatine entwickelte sich ein eigenartiges schneeiges Gewebe eines weißen Pilzes mit verzweigten in die Luft ragenden Hyphen, wie dies Verf. noch nie bei Rohzucker beobachtet hat. Daneben

¹⁾ Vgl. Milchzeitung. Bd. 40. 1911. p. 75.

erschieden in großer Zahl Kolonien eines charakteristischen Sproßpilzes, während Spaltpilze kaum vorhanden waren. Es gelang, beide Organismen rein zu züchten. Der Sproßpilz stellte sich als eine echte Hefe heraus, während der Pilz sich als ein *Rhizopus*, einen nahen Verwandten der *Mucor*-arten, auswies. Letzteren Pilz hat Verf. bisher niemals in einem Rohzucker, sondern nur im Diffusionssaft gefunden, wenn angefaulte Rüben zur Verarbeitung gekommen waren. Sonst findet sich der Pilz auf Früchten, überhaupt auf Vegetabilien, zumal auf Zucker- und stärkeichen Stoffen. Die Veränderung des Zuckers erklärt sich daraus, daß er Feuchtigkeit angezogen und zwar wahrscheinlich während des Schiffstransportes und mit dieser Feuchtigkeit auch die neuen Organismen aufgenommen hatte, die in dem sauren, bereits in Zersetzung befindlichen Zucker einen zusagenden Nährboden fanden.

Stift (Wien).

Gerber, C., Action des sels des métaux du groupe aurique sur la saccharification de l'empois d'amidon par les ferments amylolytiques. (Compt. rend. Soc. biol. Bd. 70. 1811. p. 139.)

Cadmiumchlorid verzögert schon in den kleinsten Mengen die Wirkung mittlerer Amylasemengen, durch größere wird sie gehemmt; bei Zusatz größerer Mengen tritt die verzuckernde Wirkung der Fermente des Feigenbaumes und der *Broussonetia* wieder auf, steigt und fällt mit zunehmender Menge des Metallsalzes. Die Wirkung des letzteren erstreckt sich nicht auf das Ferment, sondern auf die Stärke. Ähnlich wie Cadmiumchlorid verhält sich Zinksulfat, welches aber weit stärker auf die Feigenamylase wirkt als auf *Broussonetia*. Zinkchlorid wirkt in kleinen Mengen wie die vorigen, hemmt aber auch in großer Menge die Verzuckerung. Quecksilber- und Silbersalze hindern schon in sehr geringen Mengen, indem sie nicht nur auf die Stärke, sondern auch auf die Fermente wirken. Emmerling (Hermsdorf.)

Carbone, D., Sulla decomposizione aerobica della cellulosa (Boll. Soc. med. Pavia. 1910. T. 1, 13. V.; 1911. 1. IV.)

Zwei vom Verf. isolierte *Penicillium*-Rassen vermögen Cellulose unter aëroben Bedingungen anzugreifen, wobei die durch Porzellanfilter gehenden Bestandteile eines kalten Bodenausguges als Nährstoffe dienen können. Weder Amyloid noch Zucker noch Gummi konnten unter den Zersetzungsprodukten der Baumwolle gefunden werden. Pantanelli (Rom).

Perotti, R., Sopra i metodi di misura dell'attività microbica nel terreno agrario. (Rendic. Accad. Lincei. Ser. 5. Vol. 20. 1911. 1. Sem. p. 266—274.)

Geringe Schwankungen der Ammonisationskraft des Bodens wurden vom Verf. im Verlaufe eines Jahres ebenso wie bei Untersuchung verschiedener Böden beobachtet. Das Ammoniakbildungsvermögen gibt daher keinen Anhalt über die biologische Beschaffenheit eines Bodens. Die Nitrifikationskraft wächst mit dem Humusgehalt ebenso wie die Denitrifikationskraft. Darum würde die Remysche Methode erst bei Erfüllung aller Bedingungen, welchen die Mikroorganismen im natürlichen Standorte ausgesetzt werden, gute Dienste leisten.

Pantanelli (Roma.)

Mooser, Biologisch-chemische Vorgänge im Erdboden. (Die landw. Versuchs-Stationen. Bd. 75. 1911. p. 53.)

Verf. hält die allgemein bekannten Verschiedenheiten im Verhalten der nitrifizierenden Organismen in künstlicher Kultur einerseits und im Ackerboden andererseits für so bedeutend, die Kluft, die sich hier, und wie er meint auch auf anderen Gebieten der Bodenbakteriologie auftut, für so unüberbrückbar, daß es ihm dringend geboten erschien, nach anderen Ursachen für manche der bisher durch biologische Prozesse erklärten Erscheinungen zu suchen. Insbesondere die für die biologische Nitrifikation sprechenden Tatsachen lassen sich nach Verfs. Überzeugung nicht aufrecht erhalten.

Für die Differenzen zwischen dem Verhalten der nitrifizierenden Organismen in Reinkultur und den Bedingungen der Salpeterbildung in der Natur hat nun aber Winogradsky selbst durchaus befriedigende und ungezwungene Erklärungen gegeben (Lafars Handbuch. Bd. III. p. 177), und wenn auch zugegeben werden soll, daß vielleicht noch andere, bisher unbekannte Mikroorganismen ebenfalls zur Bildung von Nitrat befähigt sind, und ebenso wenig bezweifelt werden kann, daß sich auch auf chemischem Wege unter Umständen gewisse Mengen von Nitrat in der Natur bilden können, so steht doch andererseits unbestritten fest, daß die eigentliche Nitrifikation, der Hauptvorgang der Salpeterbildung im Boden, nur durch die eng begrenzte Gruppe der von Winogradsky zuerst in Reinkultur gewonnenen Nitroso- und Nitrobakterien erregt werden kann. Sehen wir uns nun das Beweismaterial an, das Verf. gegen die herrschende Auffassung beibringt.

Er stellt zunächst einen Versuch über den Einfluß des kohlensauren Kalks auf die Nitrifikation an und verfolgt das Fortschreiten der Reaktion durch Nitratbestimmungen nach der Methode von Schlösing. Aus den gewonnenen Zahlen schließt er, daß von dem bei manchen Versuchen absichtlich zugegebenen Nitratstickstoff (0,1 g) etwas in Verlust geraten ist und meint, daß dies durch irgendwelche rätselhaften Vorgänge geschehen sein müsse, jedenfalls nicht durch Denitrifikation, die er weder in dem verwendeten Boden noch in Lösungen hervorzubringen imstande war. Aus diesen Fehlschlägen die Unmöglichkeit von Denitrifikationsvorgängen für den vorliegenden Fall abzuleiten ist jedoch nicht angängig, denn es ist für gewöhnlich ein leichtes, in Lösungen durch Reinkulturen von denitrifizierenden Bakterien Salpeterzerstörung hervorzurufen. Ferner ist es nicht mehr zutreffend, „daß die durch Wagner heraufbeschworene Denitrifikationsfurcht namentlich dank den Verdiensten Pfeiffers heute für den Erdboden als unbegründet betrachtet werden darf“, denn Pfeiffer hat bekanntlich neuerdings die Möglichkeit des Eintritts von Denitrifikationserscheinungen zugegeben, und diese bei Gefäßversuchen sogar mit Sicherheit beobachtet. Bei einer ähnlichen Versuchsanordnung, wie sie Verf. gewählt hatte, sind auch vom Ref. Stickstoffverluste konstatiert worden (Mitt. d. Kais. Wilh. Institut. f. Landwirtsch. in Bromberg. Bd. III. p. 350), die nur durch Denitrifikation zu erklären sind.

Im ganzen sind aber die vom Verf. festgestellten Differenzen im Nitratgehalt der einzelnen Proben so gering, daß weitergehende Schlüsse überhaupt nicht aus ihnen hätten gezogen werden sollen. So wurden in Reihe IX, in welcher dem Boden 0,1 g Nitratstickstoff zugegeben worden waren, nach 150 Tagen 0,1092 g wiedergefunden. Der Boden für sich allein ohne alle Zusätze (Reihe VIII) enthielt nach dieser Zeit 0,0116 g Nitratstickstoff. Wenn man also annimmt, daß in beiden Reihen die Nitrifikation ganz gleichmäßig verlaufen ist, wozu man jedoch bei der durch den Nitratzusatz bewirkten Verschiedenheit der Böden nicht berechtigt ist, so würde man einen Verlust von

2,4 mg N herausrechnen können, der innerhalb der Fehlergrenze liegt. Selbst wenn hierzu noch die in 300 g Boden ursprünglich enthalten gewesenen 6,3 mg Nitratstickstoff hinzugezählt werden, so ist die erhaltene Menge von 8,7 mg N noch immer bedeutend geringer, als die Differenz in den ermittelten Stickstoffwerten der ganz gleich behandelten Reihen I und VIII. Diese beträgt nämlich 17,6 mg.

Wenn Verf. ferner glaubt, jede Möglichkeit der Tätigkeit der nitrifizierenden Organismen bei seinen Versuchen mit kalkreichen Erden ausschalten zu müssen, weil in diesen die Bedingungen für die Bildung von freiem Ammoniak gegeben waren, gegen welches jene Mikroben so überaus empfindlich sind, so berücksichtigt er nicht die Absorptionskraft des Bodens für Ammoniak und die hieraus sich ergebenden geänderten Verhältnisse, ganz abgesehen davon, daß der Beweis für die Entstehung freien Ammoniaks nicht erbracht ist. Im sterilisierten Boden kann es allerdings unter den genannten Umständen zu einer Anhäufung von Ammoniak kommen, in der vom Verf. verwendeten kalk- und humusreichen Erde wird aber die Oxydation des Ammoniakstickstoffs durch die *Winogradsky* schen Monaden glatt, und wie die mitgeteilten Zahlen auch zeigen, fast vollständig erfolgen.

Bei einem Versuche, bei welchem dem Boden aus bestimmten Gründen Zusätze von Kresol gegeben worden waren, bemerkte Verf. eine Verzögerung der Salpeterbildung bis zum völligen Verschwinden des Kresols (nach 30 Tagen) und nach dieser Zeit einen ganz normalen Nitrifikationsverlauf. Er zieht aus diesen Beobachtungen den folgenden eigenartigen Schluß: „Eine Beeinflussung der Nitrifikationsflora kann unseres Erachtens nicht angenommen werden, denn sonst böte der Zeitpunkt des Verschwindens des Antiseptikums nicht gleichzeitig den Anlaß zu beginnender Zunahme an Salpeter. Die durch das Kresol abgetöteten oder zum mindesten sehr geschwächten Organismen bedürfen in diesem Falle gewiß längerer Erholung, um ihrer Aufgabe in einer Weise gerecht werden zu können, wie sie ihre besser situierten Kollegen in der Versuchsreihe ohne Kresol nicht besser erfüllen können.“ Und weiter: „Nach unserem Dafürhalten zeigen die erhaltenen Resultate klar und deutlich, daß ein anderer, als der durch die Bakterien *Winogradsky* bewirkte Oxydationsprozeß die Ursache der Salpeterbildung gewesen ist, daß diese Oxydation in der Kresolreihe vorerst die reichlich vorhandene und fein verteilte Kohlenstoffverbindung ergriffen hat und erst nach Umwandlung derselben in eine andere Form zum ursprünglichen und gewohnten Prozeß zurückgekommen ist. Nach dieser Auffassung erklärt sich die überraschende Abnahme des Kresols, sein baldiges Verschwinden, das vorläufige Ausbleiben der Oxydation des vorhandenen Ammoniaks und der sofortige Beginn dieses Prozesses nach Abbau der Kresole.“ Diese sämtlichen Erscheinungen erklären sich aber doch viel ungezwungener aus längst bekannten Tatsachen. *Hiltner* hat beispielsweise schon i. J. 1908 Versuche mit Kresol ausgeführt (Jahresber. d. Vereinig. f. angew. Botanik. 1908. p. 200), nach welchen dieses, wie überhaupt alle Giftstoffe, die durch Zersetzung oder Umsetzung wieder aus dem Boden verschwinden, nach Ablauf der Periode, in welcher die Giftwirkung sich äußert, den Fruchtbarkeitszustand und das Bakterienleben des Bodens günstig beeinflußt. Endlich hält es Verf. für ganz unmöglich, daß die gegen organische Substanzen empfindlichen Nitrifikationsbakterien in den kresolbehandelten Erden ihre Tätigkeit entfalten konnten. Die Erklärung dieser ihm so rätselhaften Erscheinung hätte er jedoch leicht in den erwähnten Auslassungen *Winogradsky* und in zahlreichen Publi-

kationen finden können, die sich mit dem Einfluß organischer Substanzen auf die Nitrifikation beschäftigen. Auch hätte er sich ohne weiteres durch einige Abimpfungen in die O m e l i a n s k i s c h e n Nährlösungen von dem Vorhandensein und der Vermehrungsfähigkeit der nitrifizierenden Organismen in seinen Proben überzeugen können. In der von Verf. verwendeten, durch mehrtägiges Lagern im Glashause getrockneten Erde werden sich (nach Erfahrungen, die Ref. mehrfach bei ähnlichen Versuchen machen konnte) die sporenbildenden, an der Zersetzung der organischen Substanzen, also auch des Kresols, hauptsächlich beteiligten Arten stark vermehrt haben, ohne daß die nitrifizierenden Bakterien gänzlich vernichtet worden wären. Sie sind höchstens ihrer Zahl nach zurückgegangen, behielten aber die Fähigkeit, sich bei Eintritt günstiger Verhältnisse sofort wieder mit der alten Energie zu vermehren. So ist es zu erklären, daß nach dem Verschwinden des Kresols eine normale Nitrifikation durch die Zusammenarbeit der organischen Substanz in Ammoniak umwandelnden und der nitrifizierenden Organismen eintrat.

In stark erhitztem Boden konnte Verf. keine Salpeterbildung beobachten, bemerkt aber mit Recht, daß durch das Erhitzen auch die katalytischen und kolloidalen Wirkungen des Bodens verändert oder zerstört sein konnten. In Erden, die gelinderer Erwärmung ausgesetzt worden waren, trat Salpeterbildung ein. In allen Fällen, in welchen Verf. die Entstehung von Nitrat „bei völligem Ausschluß der klassischen Nitrifikationserreger“ beobachtet haben will, hätte er sich und andere in einfachster Weise durch Abimpfungen in die O m e l i a n s k i s c h e n Nährlösungen davon überzeugen können, daß es ihm wirklich gelungen war, diese Organismen fernzuhalten. Das hat er leider nicht getan. Er begnügt sich vielmehr mit der Erklärung, daß eine biologische Nitrifikation bei einzelnen seiner Versuche „ausgeschlossen“ war. Für ebenso unwahrscheinlich hält er andererseits auch das Auftreten einer rein chemischen Oxydation des Stickstoffs. „Wäre dies der Fall, so müßte sie allgemein auftreten, somit auch in den sterilisierten Gefäßen stattfinden.“

Nach einigen vergeblichen Versuchen, katalytisch wirkende Stoffe aus dem Boden zu extrahieren, teilt Verf. Untersuchungen über das Dephenolisationsvermögen des Bodens mit. Er fand, daß dem Boden oder Bodenauszügen zugesetztes Kresol sehr bald zum großen Teil verschwindet, auch wenn der Boden durch Zugabe von Phosphorsäurelösungen keimfrei gemacht worden war. Erhitzen des Bodens auf 2 Atm. im Autoklaven — wobei als entsprechende Temperatur stets fälschlich 102° angegeben wird — hob das Dephenolisationsvermögen der Erde auf. Verf. vermutet daher, „daß das wirksame Agens dieser Erscheinung in der Reihe der Kolloide des Erdbodens resp. vorhandener Humuskomplexe zu suchen sei“. In Erden, die 2 Stunden bis auf 100° erwärmt worden waren, trat die Kresolzersetzung noch ein. Verf. befindet sich im Irrtum, wenn er hieraus den Schluß zieht, daß hier von Bakterienwirkung nicht die Rede sein könne, denn die sehr resistenten Sporenbildner des Bodens überstehen diese gelinde Art der Erwärmung. Eine einzige Abimpfung in Peptonboullion hätte ihm den Beweis von der Anwesenheit zahlloser derartiger Bakterien erbracht. Daß solche bei der Kresolzersetzung wirksam waren, beweist der Umstand, daß sich diese bei 35° viel rascher und vollständiger vollzog als bei 20°. Verf. glaubt aber, das Agens dieser Vorgänge „auf dem derzeitigen Modemarkt der Wissenschaft, im Reiche der Enzyme resp. Katalysatoren“, suchen zu sollen. Alle Bemühungen, solche Stoffe zu isolieren, waren jedoch erfolglos.

Durch weitere Versuche beweist Verf. die wie erwähnt längst bekannte Tatsache, daß das Dephenolisationsvermögen eine spezifische und charakteristische Eigenschaft des Bodens ist. Alle Bemühungen, den vermutlichen Urheber dieser Umsetzungen aufzufinden, waren ergebnislos. Er kommt schließlich zu der Ansicht, daß ein eiweißartiger Körper kolloidaler Natur, der bei der Sterilisation im Autoklaven zerstört wird, die Kresolzersetzung bewirkt.

Das Gesamtergebnis der M.schen Arbeit läßt sich nach Ansicht des Ref. dahin zusammenfassen, daß bei wirklichem Ausschluß jeder Mikrobentätigkeit, nämlich in den im Autoklaven sterilisierten Proben und Versuchsmischungen, weder Nitrifikation noch Kresolzersetzung eingetreten ist. Daß sich die letztere bei Gegenwart stark oxydierender Stoffe, wie Phosphorsäure oder Mangansuperoxyd, auch auf rein chemischen Wege vollziehen kann, wird niemand leugnen wollen. Wo sonst noch diese Prozesse vor sich gegangen sind, bot die M.sche Versuchsanordnung keine Gewähr für einen völligen Ausschluß der beteiligten Mikroben. Es ist unbegreiflich, daß Verf. es unterlassen hat, sich durch Abimpfung aus seinen Versuchserden in entsprechend zusammengesetzte Nährlösungen von dem Vorhandensein oder Fehlen der fraglichen Mikroorganismen zu überzeugen.

V o g e l (Bromberg).

Lipman, Jakob, G., Suggestions concerning the terminology of soil bacteria. (Botan. Gazette. Vol. 51. 1911. p. 454—464.)

Verf. hält die in der Terminologie der Bodenbakterien gebräuchlichen Ausdrücke: Nitrifikation, Denitrifikation, Nitratreduktion, Salpeterassimilation, Stickstofffixierung, -sammlung, -assimilation usw. für nicht eindeutig und für vielfach unverständlich. Er schlägt deshalb folgende neue Bezeichnungen vor:

Ammonobakterien (produzieren Ammoniak aus Stickstoffverbindungen).

Nitrobakterien (oxydieren Stickstoffverbindungen zu Nitriten, Nitraten oder zu beiden).

Proteobakterien (bilden Stickstoffverbindungen zu Proteinen um).

Azotobakterien (führen elementaren Stickstoff in Stickstoffverbindungen über).

Der umgekehrte Vorgang wird folgendermaßen bezeichnet:

De-Ammonobakterien (führen Ammoniak in Stickstoffbindungen mit Ausnahme von Nitraten und Nitriten über).

De-Nitrobakterien (reduzieren Nitrate zu Nitriten, Ammoniak, Salpetersäure oder salpetriger Säure).

De-Proteobakterien (führen Proteine in einfachere Spaltungsprodukte über).

De-Azotobakterien (machen elementaren Stickstoff aus Stickstoffverbindungen frei).

Analoge Bezeichnungen sind:

Sulphobakterien (oxydieren Schwefelwasserstoff zu elementarem Schwefel, zu Sulphiten oder Sulphaten).

De-Sulphobakterien (reduzieren Sulphate zu Sulphiten oder Sulphiden).

Ferribakterien (bilden Ferro- zu Ferriverbindungen um) usw.

Demnach spricht man jetzt von Ammonifikation, Nitrifikation, Proteifikation, Azotifikation, Sulphifikation, Ferrifikation und De-Ammonifikation usw. Durch die Vorsilbe De- wird angedeutet, daß die betreffende Substanz verändert wird. Es bezeichnet also Ammono das Auftreten, De-Ammono das Verschwinden von Ammoniak. Bei der bisherigen Ausdrucksweise war man stets im Unklaren darüber, welcher der beiden Fälle gemeint war.

In jeder der Hauptgruppen lassen sich Unterabteilungen unterscheiden. So gliedern sich die

Ammonobakterien in Amino- Pepto- und Proteoammonobakterien. Der erste Teil des Wortes bezeichnet die Herkunft, der zweite das Endprodukt. Also Proteoammonobakterien bilden Ammoniak aus Proteinen usw. Unter den Nitrobakterien unterscheidet Verf. Nitri- und Nitrabakterien. Letztere zerfallen wieder in Ammono- und Nitrinitrabakterien. In gleicher Weise unterscheidet er unter den Proteobakterien: Ammono-, Amino-, Pepto-, Proteo-, Nitri- und Nitraproteobakterien, ebenso Azo- und Rhizoazotobakterien, Sulphid- und Thiosulphobakterien, Ferroferribakterien und umgekehrt: Deammonoamino-, Deammonopepto-, Deammonoproteo-, Deammononitri-, Deammononitrabakterien; Denitronitri-, Denitroammono-, Denitronitrioxy-, Denitronitraoxybakterien; Deproteopepto-, Deproteoamino-, Deproteoammonobakterien; Deazotoaminoazo-, Deazotoammonoazo-, Deazotonitraazo-, Deazotonitriazobakterien; Desulphosulphit- und Desulphosulphidbakterien.

Die Terminologie ist natürlich weiterer Ausbildung fähig, z. B. für die Methan, Wasserstoff, Kohlenoxyd, Zucker, Aminoverbindungen, Alkohole, organische Säuren usw. bildenden Bakterien. W. Herter (Tegel).

Kövessi, F., Nouvelles recherches sur la prétendue utilisation de l'azote de l'air par certains poils spéciaux des plantes. (Compt. rend. de l'Acad. des sciences Paris. T. 152. 1911. p. 888—890.)

In einer früher (l. c. Vol. 149. 1909. p. 56) publizierten Mitteilung hatte Verf. gegenüber J a m i e s o n s Theorie dargelegt, daß Entwicklung und chemische Qualität der Trichome in stickstoffhaltiger und in stickstofffreier Atmosphäre gleich seien. Z e m p l é n und R o t h wandten dagegen ein, daß die als stickstofffrei angesehene Atmosphäre doch vielleicht noch Stickstoffspuren enthalten habe, die von den Haaren absorbiert worden seien. Obwohl es sich hierbei nur um eine Hypothese handelt, hat Verf. doch nochmals den Versuch unter Beachtung aller Kautelen wiederholt, um jeden Einwand zu eliminieren. Die benutzten, in einer besonderen Mitteilung eingehend zu schildernden Einrichtungen werden kurz skizziert; durch spektroskopische Untersuchungen wurde der völlige Ausschluß des gasförmigen Stickstoffs kontrolliert. Als Versuchspflanzen dienten: *Robinia Pseudacacia*, *Robinia hispida*, *Ribes grossularia*, *Aesculus Hippocastanum*, *Acer platanoides* und *pseudoplatanus*. Wieder zeigten sich in stickstoffhaltiger wie in stickstofffreier Atmosphäre gleiche Entwicklung und gleiche Albuminoid-Reaktionen der Trichome. „Der Stickstoff dieser Albuminoide entstammt nicht der Luft.“

L ö h n i s (Leipzig).

Mameli, Eva e Pollacci, G., Sul l'assimilazione diretta dell'azoto atmosferico libero nei vegetali. (Atti Ist. Bot. Pavia. Ser. 2. Vol. XV. 1911. p. 159—257, mit 3 Taf.)

In einer sterilen, von Stickstoffverbindungen freien Nährlösung vermehrten sich Reinkulturen von *Oedogonium*, *Spirogyra*, *Zygnema* und *Protococcus*, indem sie den freien Stickstoff benutzten. Unter gleichen Bedingungen konnte durch Aussaat von *Protococcus*-Zellen und Pilzsporen Flechtenbildung (*Physcia parietina*, *Cladonia furcata*, *Lecidea* sp.) erzielt werden. Unter den Moosen ließ sich nur *Amblystegium irriguum* ohne Zusatz von Stickstoffverbindungen züchten.

Andere Pflanzen wurden mit Perhydrol äußerlich sterilisiert und auf ihr Stickstoffassimilationsvermögen geprüft. Positive Ergebnisse wurden mit *Azolla caroliniana* (enthaltend *Anabaena azollae*), *Sal-*

vinia natans, *Tradescantia*, *Anthurium*, *Canna*, *Lemna major* und *minor* (ohne Endophyten) erhalten.

Raphanus sativus, *Acer negundo*, *Cucurbita pepo*, *Polygonum fagopyrum*, *Solanum nigrum* assimilierten ebenfalls den Luftstickstoff bei Kultur auf stickstofffreien, sterilen Substraten unter Durchleitung eines von Stickstoffverbindungen befreiten Luftstromes. Zufuhr gebundenen Stickstoffes setzt bei diesen Pflanzen die Luftstickstoff-assimilation herab.

Im Anschluß an diese Ergebnisse vermuten die Verff., daß die Chlorophyllzellen die Fähigkeit besitzen, aus Stickstoff und naszierendem Wasserstoff Ammoniak zu bilden.

Pantanelli (Rom).

Mazé, Recherches sur la formation d'acides nitreux dans la cellule vivante. (Compt. rend. hebdomadaire de l'Académie des sciences. Paris. T. 152. 1911. p. 1624—1627.)

Verf. vertritt die Ansicht, daß die Befähigung zur Nitrifikation unter den Mikroorganismen weit verbreitet sei. (Daß Heräus u. a. vor 25 Jahren die gleiche Annahme hegten, diese sich aber inzwischen als unzutreffend herausgestellt hat, wird nicht berücksichtigt.)

Bisher sei der Cholera-Vibrio der einzige, bekannte Organismus, der in nitratfreien (?) organischen Substraten salpetrige Säure produziere. Aus Pflanzensäften und aus Boden wurden eine ganze Reihe Bakterien (Sarcinen, sporenbildende und sporenfreie, bewegliche und unbewegliche Stäbchen) isoliert, die sämtlich in den gewöhnlichen Nährsubstraten, außer in Milch und in flüssigem Serum, salpetrige Säure produzieren sollen. In pflanzlichen und tierischen, an reduzierenden Substanzen reichen Säften wurde kein Nitrit gefunden; mineralische Lösungen ergaben weniger als organische. In den letzteren stieg der Gehalt an salpetriger Säure nicht über $\frac{1}{25000}$, in den mineralischen Substraten wurde als Maximum sogar nur $\frac{1}{33000}$ gefunden.

Diese Nitritbildung soll in organischen Medien sehr rasch vor sich gehen. Bei 20° sei sie schon nach 4—8 Stunden nachweisbar. In mineralischer Lösung dauere es bis zum Eintreten der positiven Reaktion 1—4 Tage. Ausgiebige Lüftung hemme diesen Prozeß, die also von der von Schlösing und Müntz studierten „nitrication véritable“ durchaus verschieden sei. Selbst in der geschlossenen U-Röhre konnte Verfasser mittels des Trommsdorffschen Reagens Nitritbildung bei anäeroben Sporenbildnern nachweisen. Ja sogar dann wurde eine positive Reaktion erhalten — und zwar bereits nach 1—2 Stunden — wenn eine Emulsion aërober Bakterien in destilliertem Wasser unter Luftabschluß aufbewahrt wurde. Ob diese salpetrige Säure in freiem oder in gebundenem Zustande zugegen sei, läßt der Verf. dahingestellt.

Löhnis (Leipzig.)

Pantanelli, E. e Severini, G., Alcune esperienze sulla nutrizione azotata delle piante verdi con diversi sali di ammonio. (Stazioni sperimentali agrarie. 43. 1910. p. 449—544.)

Verff. benutzten sterile Wasser- und Bodenkulturen; am Ende des Versuches wurden die Ernten gemessen und ihr Gehalt an Gesamt-, Protein-, Amid-, Ammoniak- und Nitratsstickstoff festgestellt. In den Wasserkulturen wurden auch die Nährlösungen analysiert.

In sterilen Wasserkulturen können einige Ammonsalze schlechte Ergebnisse liefern, weil die schnelle Aufnahme des Ammoniaks Ansäuerung der Nährlösung und zwar am meisten bei starken Anionen, wie Schwefel-, Salz-

und Salpetersäure bewirkt. Wird das Anion schnell absorbiert, wie Salpeter- und Phosphorsäure, so nimmt nach den ersten Wochen die Azidität wieder ab und erholen sich die Pflanzen. Bei Anwendung unlöslicher oder schwach löslicher Ammonsalze, wie Ammoniummagnesiumphosphat bleibt die Ansäuerung aus, Ammon wird sehr langsam aufgenommen, die Pflanze (insbesondere Weizen, Mais, Reis) nutzt es zur Bildung organischer Substanz und Eiweißstoffes am besten aus.

Ammonsalze mit organischem, wenig dissoziiertem aber schnell aufnehmbarem Anion (Weinsäure) erlauben schnelle Bildung organischer Stickstoffverbindungen, machen aber die Nährlösung alkalisch, sei das von der raschen Aufnahme des Weinsäureanions oder von einer Beschleunigung der Phosphorsäureaufnahme unter Zurücklegung des Kalis bedingt.

Im ganzen wird die Überlegenheit einzelner Ammonsalze vor dem Chilisalpeter für die Entwicklung und Stickstoffausnutzung in steriler Wasserkultur bewiesen, nur wird dieses oder jenes Ammonsalz von den verschiedenen Pflanzen (Weizen, Mais, Reis, Senf, Lein) bevorzugt, je nach der spezifischen Geschwindigkeit der Anionaufnahme, da Ammoniak in allen Fällen äußerst schnell absorbiert wird; es kommt nämlich nur darauf an, eine zu weitgehende Ansäuerung der Außenlösung zu vermeiden.

In sterilisierten Böden verhielten sich die einzelnen Ammonsalze unter dem Einfluß von zwei Bodenfaktoren, der Absorptionskraft für Ammoniak und dem Kalkgehalt, sehr verschieden. Die Versuche wurden mit Weizen und Mais auf drei primitiven, typischen Böden ausgeführt, und zwar auf ton- und kalkfreiem vulkanischem Grobsand, auf kalk- und etwas tonhaltigem feinem Flußsande und auf kalkreichem, blauen Mergel. In sämtlichen (sterilen) Gefäßen wurde eine stärkere Entwicklung und Trockensubstanzbildung mit allen Ammonsalzen im Vergleich zum Chilisalpeter erhalten. Daran war der Natrongehalt schuldig, der Alkaleszenz und Verkrustung des Bodens, insbesondere des Mergelbodens, bewirkte. Salpetersäure verhielt sich immerhin wie eine vorzügliche Stickstoffquelle, obwohl der Ausnutzungskoeffizient des aufgenommenen Stickstoffes für die Bildung von Trockensubstanz hier und da bei Ammonzufuhr sich höher einstellte. Die Ausnutzung des Ammonstickstoffes für die Bildung organischer Stickstoffverbindungen war meistens eine viel bessere im Vergleich zum Salpeterstickstoff. Endlich nahm die Ausnutzung des aufgenommenen Stickstoffes mit der ammoniakfestlegenden Kraft des Bodens zu, woraus es wiederum zu schließen ist, daß Ammoniak um so besser ernährt, je langsamer aufgenommen wird. Dabei ist auch anzunehmen, daß Mergelboden durch seinen Kalkreichtum die Ansäuerung ausschaltet und Kalk den jungen Pflanzen liefert.

Auf Grund dieser Ergebnisse erachten die Verff., daß die oft beobachtete Überlegenheit des Chilisalpeter im Vergleich zum Ammonsulfat von einer irrationalen Anwendung auf ungeeigneten Böden oder Pflanzen bedingt wird und das Weglassen anderer Ammonsalze keineswegs berechtigt, denn Ammoniakstickstoff weist einen höheren Ausnutzungskoeffizient als Salpeterstickstoff und die Anwendung hängt vom Verhältnis der Ionenabsorptionsgeschwindigkeiten ab.

Weitere Untersuchungen über den Stickstoffwechsel aus Ammon-, resp. Nitratquelle und den Energieumsatz bei der Eiweißbildung werden in Aussicht gestellt.

E. P a n t a n e l l i (Roma.)

17*

Pennington, L. H., Upon assimilation of atmosphaeric nitrogen by fungi. (Bull. Torrey botan. Club. Vol. 38. 1911. p. 135—139.)

Verf. bemerkte ein ausgezeichnetes Gedeihen einer Kultur von *Fusarium Zeae*, wenn Stickstoff dem Nährsubstrat in Form von Nitraten zugesetzt wurde. Dies führte ihn zur Entscheidung der Frage, ob die Pilze überhaupt imstande sind, den freien Stickstoff der Luft zu assimilieren, und wie es komme, daß die Forscher diesbezüglich verschiedener Meinung sind. So erzielten bei *Aspergillus niger* Berthelot, Puriewitsch, Saida, Froehlich und Latham positive Resultate, während Czapek, Koch und Winogradski bei derselben Pilzart negative Ergebnisse bekamen.

Verf. hat nun 2 Arten von *Penicillium*, *Aspergillus niger*, 2 Arten von *Fusarium* und eine Art von *Alternaria* nach der Methode Ternetz und Froehlich kultiviert. Speziell der *Aspergillus* wurde mit sehr viel Ammoniumnitrat aufgezogen. Die Resultate zeigten unzweideutig, daß alle diese Pilze nicht im Stande waren den atmosphärischen Stickstoff zu assimilieren. Die oben erwähnten positiven Ergebnisse der Forscher sind — so meint Verf. — darauf zurückzuführen, daß die Bestimmung des Stickstoffes nach der Methode Kjeldahl viel Erfahrung, Übung und Umsicht erheischt. Hierin erblickt der Verf. also die Ursache der Differenz in den Angaben der Forscher.

Dann befaßt sich der Verf. mit einer Arbeit von Thom über die Kultur von *Penicillium* und macht darauf aufmerksam, daß einige Stämme bzw. Rassen des *Penicillium glaucum* die Fähigkeit haben sollen, den freien Stickstoff zu assimilieren, während anderen die Eigenschaft abgeht.

Matouschek (Wien.)

Schindler, F., Sechsjährige Versuche mit Nitraginimpfung nebst Beiträgen zur Gründüngungsfrage. (Zeitsch. f. d. Landw. Versuchswes. in Österr. Jg. 14. 1911. p. 825.)

Der zu den Versuchen, die 6 Jahre ohne Unterbrechung ausgeführt wurden, dienende Boden war sehr humusarm, grobsandig und von so geringem Stickstoffgehalt, daß in der Nitraginimpfung von vornherein ein Effekt zu erwarten war, umsomehr als Leguminosenbakterien vollständig fehlten. Durch die 6-jährig intensive Kultur wurde nun aus dem armen Sandboden ein Boden gemacht, der seinen Gemengteilen nach noch immer aus Sandboden besteht, sich jedoch im Laufe der Jahre derart mit Humus- und Pflanzennährstoffen angereichert hatte, daß er auch hinsichtlich seiner physikalischen Beschaffenheit wegen, mit einem fruchtbaren, humosen Lehm Boden verglichen werden konnte. Verf. bespricht nun die im Jahre 1904 beginnenden 6 Versuchsperioden, um sodann auf Grund weiterer Versuche sich dahin zu äußern, ob und unter welchen Verhältnissen das Impfverfahren speziell in Mähren eine praktische Bedeutung erlangen könnte. Diesbezüglich muß auf das Original verwiesen werden, desgleichen auch auf die Ausführungen über die Gründüngung, welche letztere darin gipfeln, daß die Frage nach der Wirksamkeit der Gründüngung nicht im ersten Anlaufe zu erledigen ist, sondern jahrelanger, vergleichender Beobachtungen bedarf, wenn man zu einem abschließenden Urteil gelangen will. Es spielen hier verschiedene Faktoren, darunter auch die örtlichen Verhältnisse, eine gewichtige Rolle.

Stift (Wien.)

Vater, H., Die Tharandter Forstdüngungsversuche. (Tharandter forstl. Jahrb. Bd. 61. 1910. p 111—135.)

Die Versuche des Verf. ergaben, daß die durch Düngung erzielten Mehrleistungen der Bestände ihrem Werte nach hinter den Kosten der Düngung im allgemeinen weit zurückblieben. Durch Verbesserung unserer Kenntnisse und hieran anknüpfend durch Verbesserung unserer Verfahren wird sich jedoch vielleicht in einer Anzahl von Sonderfällen die Düngung im Forste gewinnbringend gestalten lassen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Vogel, Über den Einfluß von kohlen saurem Kalk auf die Umwandlung von Ammoniakstickstoff und Nitratstickstoff (Mitteil. d. Kaiser-Wilhelms-Institut. f. Landwirtsch. Bromberg. Bd. 3. 1911. p. 330—350).

Die Versuche wurden in Flüssigkeiten, sowie in Erde ausgeführt.

Verschiedene Nährlösungen mit je 2% Traubenzucker und 0,2% Stickstoff als $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ oder als NaNO_3 wurden z. T. unter Zugabe von 0,6% CaCO_3 + 0,5% MgCO_3 zu je 100 ccm in Erlenmeyer-Kolben (Größe?) verteilt mit (aus 50 g Erde + 500 ccm Wasser bereiteten) Bodenaufschwemmungen geimpft und bei 22° C aufbewahrt. Bei Karbonatzusatz herrschten die Bakterien vor, im anderen Falle die Schimmelpilze. Die innerhalb 8—21 Tagen in den Lösungen assimilierten Stickstoffmengen bewegen sich zwischen 7,59 und 20,15% in den Ammon-, zwischen 12,04 und 13,68% in den Nitratlösungen. Der Karbonatzusatz wirkte je nach der zur Impfung benutzten Erdart verschieden, und zwar meist deutlich fördernd in der Ammon- fast gar nicht in der Salpeterlösung. Erde von vor längerer Zeit gekalkten Parzellen veranlaßte eine etwas stärkere Ammon- und Nitratassimilation als gleiches Material von ungekalkten Teilstücken. Ein einige Zeit vor dem Versuch bewirkter Kalkzusatz zur Erde blieb bei der nachfolgenden Prüfung in karbonatfreier Lösung ohne Einfluß. Ebenso rief eine Variierung in der Impfmenge (5 bis 50 ccm der Erdaufschwemmung) keine Unterschiede im Resultat hervor.

Die Er d v e r s u c h e wurden mit je 100 g gekalkter bzw. ungekalkter Erde in 400 ccm Erlenmeyer-Kolben angesetzt. Hinzugefügt wurden 0,125 bis 0,250 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bzw. 0,160—0,320 g NaNO_3 , z. T. 0,9 g CaCO_3 und 15 ccm Wasser. Die Gefäße wurden bei 22—23° C 20 Tage lang aufbewahrt. In keinem Falle ergab sich (entgegen den in Lösungen erlangten Befunden) eine Vermehrung des organischen Stickstoffes. Dagegen traten in allen Fällen beträchtliche Stickstoffverluste ein, die, wenn nicht ausschließlich, so doch ganz vorwiegend auf Denitrifikation zurückgeführt werden müssen, die infolge ungenügender Lüftung der benutzten Versuchsgefäße zu Stande kam. Über weitere unter anderen Bedingungen (speziell bei vollkommenerer Durchlüftung) angestellte Experimente soll später berichtet werden. L ö h n i s (Leipzig.)

Heinze, B., Über die Mitwirkung und den praktischen Wert der Mikroorganismen bei der Stickstoffversorgung des Bodens und der Pflanzen. (Jahresber. d. Vereinig. f. angew. Botanik. Bd. 8. 1910. p. 29—77).

Der Vortrag bringt im allgemeinen eine ausführliche Wiederholung von schon oft Gesagtem. Hingewiesen sei auf einige instruktive Zahlen betr. Förderung der Stickstoffbindung in Erde + Zucker durch Zucker- und Strohdüngung (p. 70). Der fixierte Stickstoff ging in relativ kurzer Zeit etwa zur Hälfte in Nitrat über (p. 65). Die Stickstoffbindung in Erde war bei 10° C noch nicht deutlich nachzuweisen; bei 15° C war sie dagegen schon recht kräftig.

In mit Lösungen durchgeführten Versuchen wurde die untere Grenze bei 6—7° gefunden. (p. 67 f.)
L ö h n i s (Leipzig).

Pringsheim, Hans, Die Bedeutung stickstoffbindender Bakterien. (Biolog. Centralbl. 31. 1911. p. 65—81).

Enthält eine Zusammenfassung der für die landwirtschaftliche Praxis wichtigen Ergebnisse der Forschung über stickstoffbindende Bakterien. Verf. behandelt kurz die verschiedenen Gruppen stickstoffbindender Bakterien und zwar die Knöllchenbakterien, verschiedene Arten freilebender Stickstoffbinder, *Clostridium*, *Azotobacter* usw.

Daß die Impfversuche mit freilebenden Bakterien wenig günstig ausfielen, schreibt Verf. dem Fehlen geeigneter Vermehrungsbedingungen zu. Die betreffenden Bakterien sind vielleicht gerade in manchen Böden nicht anzutreffen.

Die Frage, bis zu welchem Maße die stickstoffsammelnden Organismen im Dienste der Landwirtschaft mitwirken können, ist noch nicht gelöst. Die Erfolge der Chemie, den Luftstickstoff in ein geeignetes Düngemittel überzuführen, werden den bodenbakteriologischen Bestrebungen eine schwere Konkurrenz sein.
W. H e r t e r (Tegel.)

Brux, Pflanzenimpfversuche der landw. Kreiswinterschule Traunstein. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. 1911. p. 35.)

Verf. berichtet über die Ergebnisse der im Jahre 1910 in größerem Umfange ausgeführten Impfversuche mit Nitragin, das in Form von Röhrenkulturen von der agrikulturbotanischen Anstalt in München geliefert worden war. Die Resultate waren durchweg sehr günstig. Besonders bei Rotklee war auf kalkarmem Leimboden der Impferfolg ein ausgezeichneter. Nach dem Stande des Stoppelklee im Herbst 1910 durfte erwartet werden, daß bei der Ernte des Jahres 1911 in den meisten Fällen eine beträchtliche Ertragssteigerung durch die Impfung hervortreten wird.

Auch bei Seradella und gelben Lupinen wurden durch das Impfen bedeutende Mehrerträge erzielt, ohne Impfung gediehen diese Pflanzen in der dortigen Gegend überhaupt nicht. Bei Saubohnen, Erbsen und Wicken waren ebenfalls sehr gute Erfolge der Samenimpfung zu verzeichnen.

V o g e l (Bromberg.)

Hotter, Herrmann u. Stumpf, Studien und Versuche über den Wert der Wurzelrückstände verschiedener Kulturpflanzen als Stickstoffsammler und Gründünger. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswes. in Österr. 1911 p. 152.)

Die bisherigen Forschungen über die Bedeutung der Wurzel- und Stoppelrückstände von Leguminosen und Gramineen für die nachfolgenden Früchte lassen erkennen, daß manche Versuchsansteller die Stickstoffmenge in den Ernterückständen sehr hoch, andere dagegen sie verhältnismäßig niedrig gefunden haben. Die Verf. machten es sich deshalb zur Aufgabe, von Neuem zahlenmäßig festzustellen, wie hoch die in den Wurzeln verschiedener Papilionaceen und Gramineen enthaltenen Stickstoffquantitäten zu bewerten sind.

Zu den Versuchen wurden 2 ältere, reine Papilionaceenbestände (vierjährige Luzerne und zweijähriger Rotklee), dann 2 gemischte Sätze (Wickhafer und Wiese) und 3 Gramineen (Weizen, Hafer und Mais) ausgewählt. Es

wurde der auf Teilen von 1 qm Größe der einzelnen Felder befindliche oberirdische Pflanzenbestand und das auf 50 cm Tiefe entwickelte Wurzelwerk sorgfältig gewonnen und weiter untersucht. Die erhaltenen Resultate sprechen deutlich für die Überlegenheit der Wurzelrückstände der Hülsenfrüchte hinsichtlich der Masse und des Nährstoffgehaltes. Die erhaltenen Trockensubstanzmengen waren fast doppelt so groß, als bei den Cerealien. Des weiteren hinterließen die Papilionaceen in ihren Ernterückständen große Mengen von Asche, und zwar zumeist mehr als in den oberirdischen Teilen und in bedeutend stärkerem Maße als die Gramineen. So lieferte der Wickhafer in kurzer Vegetationszeit fast doppelt so viel Aschenbestandteile als der Weizen und 50mal mehr als die Stoppeln und Wurzeln des Mais.

Die Stickstoffgewinne durch die Ernterückstände zeigten außerordentliche Differenzen. Sie betrugen bei Luzerne 298 kg, bei Rotklee 174 kg, bei Wickhafer 96 kg, Wiesenheu 156 kg und bei Mais nur 1,7 kg pro Hektar. Die untergepflügten Luzernewurzeln enthielten demnach 175 mal mehr Stickstoff für die Nachfrüchte, als das Wurzelwerk des Mais. Der Stickstoffgehalt der Wurzelrückstände von Weizen und Hafer war 2 bis 3mal geringer als der der beiden Kleearten.

Auch an wertvollen Aschenbestandteilen waren die Papilionaceenwurzeln erheblich reicher. Die Gesamtmenge der Asche betrug bei Wickhafer, Rotklee und Wiese über 1100, 1400 und 1600 kg pro Hektar, während sie bei Weizen nur 800 kg und bei Mais sogar nur 22 kg ausmachte.

Auf Grund dieser Ergebnisse kommen die Verff. zu der Überzeugung, daß das Einpflügen der oberirdischen Pflanzenmassen von Luzerne, Rotklee und Wickhafer zum Zwecke der Gründüngung sehr wenig wirtschaftlich wäre, da die Wurzelrückstände allein den Nährstoffbedarf mehrerer folgender Getreidernten vollkommen decken können. Einige vergleichende Düngungsversuche gaben dieser Ansicht der Verff. recht. Eine ausreichende Salpeterdüngung erbrachte ungefähr 500 kg Korn Mehrertrag, ihre Wirkung erstreckte sich aber nur auf ein Jahr. Dagegen lieferte der kostenlos zur Verfügung stehende Gründüngungsstickstoff der Papilionaceenwurzeln schon im ersten Jahre den gleichen Mehrertrag, und zeigte außerdem in den beiden folgenden Jahren noch eine sehr bemerkenswerte Nachwirkung.

Es sollten daher in den landwirtschaftlichen Betrieben stets etwa 15% der Ackerfläche mit Leguminosen bebaut werden. „Beim Anbau von Leguminosen in solcher Ausdehnung läßt sich mit Hilfe der Wurzelrückstände und des entsprechenden Stalldüngers, gewonnen aus dem Papilionaceenheu und dem Stroh der Halmfrüchte, die Düngerwirtschaft derartig gestalten, daß die Felder in bester Kraft bleiben, nicht zu viel Kunstdünger, hauptsächlich möglichst wenig teurer Salpeter notwendig ist und dabei die Hauptkulturen (Halmfrüchte) doch gute Mehrerträge liefern. Man wird auf diese Weise die Zu- und Abfuhr der Pflanzennährstoffe ziemlich gut in Bilanz halten, keinen Raubbau treiben, und man wird schließlich mit diesem Wirtschaftssysteme auch finanziell sehr zufrieden sein können.“

V o g e l (Bromberg).

Lemmermann, Förster u. Einecke, Untersuchungen über das Kalkbedürfnis der Ackerböden auf Grund von Bodenuntersuchungen und Vegetationsversuchen. (Landw. Jahrb. Bd. 40. 1911. p. 255).

Nach allgemeinen Bemerkungen über Wert und Ausführung von Boden-

analysen besprechen die Verff. die speziellen Methoden zur Bestimmung des Kalkbedürfnisses der Böden. Sie sind der Ansicht, daß in den meisten Fällen die Böden mit Kalk als Nährstoff genügend ausgestattet sind, und daß die Notwendigkeit seiner Zufuhr, sowie seine Wirkung meist auf seinen übrigen Funktionen beruhen. Durch umfangreiche Topfversuche unter Verwendung verschiedener Erden sollte die Bedeutung des Kalks als Pflanzennährstoff unter möglichstem Ausschluß seiner Nebenwirkungen studiert werden. Der Kalk wurde in Form von kohlensaurem Kalk, Ätzkalk und Gips zur Düngung benutzt. Nach Beschreibung und Begründung der für die analytische Bestimmung des Kalkes und der Magnesia verwendeten Methoden werden die über 5 Jahre sich erstreckenden Vegetationsversuche mitgeteilt. Aus den zahlreichen Vegetationsbeobachtungen, den im einzelnen angegebenen Erträgen und deren Gehalt an Kalk und Magnesia kann geschlossen werden, daß sich die verschiedenen Böden gegen eine Kalkdüngung verschieden verhalten haben, und daß der durch die Analyse ermittelte Kalkgehalt kein sicherer Maßstab ist für das Verhalten eines Bodens gegen eine Kalkdüngung. Auch die in kohlenensäurehaltigem Wasser löslichen Kalkmengen standen in keinem erkennbaren Zusammenhang mit den durch die Pflanzen aufgenommenen.

Von den sonstigen wichtigeren Folgerungen, welche die Verff. aus den Ergebnissen ihrer Versuche ableiten, seien noch die folgenden erwähnt:

Auf fast allen Böden zeigt sich die Erscheinung, daß die Wicke in dem zweiten Versuchsjahre, wo sie nach Wicken angebaut wurde, schlechter zur Entwicklung kam, während umgekehrt Senf nach Senf im 2. Jahre besser gedieh als im 1. Jahre. Die verschiedenen Pflanzen haben sich auf den verschiedenen Böden verschieden verhalten. Die Pflanzensubstanz war auf den Böden mit hohem Kalkgehalt reicher an Kalk als auf den Böden mit geringerem Kalkgehalt. Feinere Unterschiede des Kalkgehaltes der Böden kamen jedoch in den Ernten nicht zum Ausdruck. Bei annähernd gleichhohen Ernteerträgen kann die aufgenommene Kalkmenge verschieden sein. Rückschlüsse von der Zusammensetzung der Pflanzen auf die Zusammensetzung der Böden sind daher unsicher.

Die Ausnutzung sowohl des Kalkgehaltes der Böden als auch des Kalkes der Düngung war gering. Erstere betrug im Höchstfalle etwa 4%, letztere etwa 5,6 Proz.

Die Ausnutzung des Kalkes durch die Pflanzen stand in keinem konstanten Verhältnis zu der Menge des durch ein Lösungsmittel aus dem Boden ausgezogenen.

Wenn es sich bewahrheiten sollte, was auf Grund der vorliegenden Versuche als wahrscheinlich anzunehmen ist, daß die aufgenommenen Nährstoffe aus der Pflanze wieder in den Boden zurückwandern, werden sich die Beziehungen zwischen dem Gehalt der Pflanzen an Nährstoffen und den Ergebnissen der Bodenanalyse noch mehr verwischen müssen.

Die Bestimmung des Kalkgehaltes der Böden nach den verschiedenen Methoden hat keinen sicheren Anhaltspunkt für die Kalkbedürftigkeit derselben geliefert, wohl aber erwies sich die Feststellung der Azidität von großer Wichtigkeit.

Es gibt mehr saure Mineralböden als man gewöhnlich annimmt. Man wird also der Bestimmung des Säuregehaltes des Bodens mehr Beachtung schenken müssen, als es bisher vielfach geschah. Vogel (Bromberg).

Lemmermann, Einecke u. Fischer, Untersuchungen über die Wirkung eines verschiedenen Verhältnisses von Kalk und Magnesia in einigen Böden auf höhere Pflanzen und Mikroorganismen. (Landw. Jahrb. Bd. 40. 1911. p. 173.)

Die Verff. unterziehen zunächst die L o e w s c h e Hypothese vom Kalkfaktor einer kritischen Betrachtung, die im wesentlichen ungünstig für die L o e w s c h e n Ansichten ausfällt. Es wird ausgeführt, daß die L o e w s c h e n Versuche durchaus nicht immer von zwingender Beweiskraft sind, und daß ihnen die Resultate anderer Forschungen entgegenstehen, aus welchen hervorgeht, daß zur Erzielung von Maximalernten nicht immer ein bestimmtes Verhältnis von Kalk zu Magnesia im Boden notwendig ist.

Bei eigenen Versuchen kamen 6 Böden mit sehr verschiedenem Kalkfaktor zur Anwendung. Bei dem kalkärmsten Boden betrug das Verhältnis von CaO zu MgO 1,7:1, bei einem sehr kalkreichen humosen Sandboden 44,1:1. Es konnte erwartet werden, daß eine Änderung dieser Verhältnisse von erheblichem Einfluß auf die Erträge werden mußte, falls die L o e w s c h e n Ansichten sich bewahrheiteten. Die Erden erhielten neben einer Kali-Phosphat-Stickstoff-Grunddüngung eine Differenzdüngung von Kalk und Magnesia in Form der Karbonate und zwar in solchen Mengen, daß das Verhältnis von CaO : MgO unter Berücksichtigung des ursprünglichen Gehaltes der Böden 3 : 1, 2 : 1, 1 : 1 und 1 : 3 war. Auf den so vorbereiteten Böden wurden alsdann i. J. 1907 Cerealien, in einem Falle auch Wicken angebaut. I. J. 1908 folgten Wicken, Buchweizen, Senf und Inkarnatklees. Es zeigte sich dabei, daß in manchen Fällen, besonders auf dem an sich sehr kalkarmen Boden 1, Senf und Wicken nur sehr schwer zu normaler Entwicklung zu bringen waren. I. J. 1909 kamen auf einem der Versuchsböden (Petkus, am neuen Wege) nochmals Gerste, Senf und Wicken zum Anbau, und gleichzeitig wurde neu bezogener Boden derselben Herkunft mit wechselnden Mengen von Kalk und Magnesia gedüngt. Der Senf gedieh in diesem Jahre nicht nur auf dem neu-bezogenen, sondern auch auf dem alten Boden, auf dem er im vorigen Jahre nicht vorwärts kommen wollte, sehr gut. Der Mangel an Kalk allein scheint demnach die schlechte Entwicklung des Senfs im Jahre 1908 nicht verschuldet zu haben. Man muß vielmehr annehmen, daß andere Bodeneigenschaften, welche durch die Kalkung beeinflusst werden können, von Einfluß auf das Wachstum des Senfs waren.

Als Gesamtergebnis der umfangreichen Versuche kann gelten, daß die Ertragsdifferenzen bei den Erden mit verschiedenem Kalkfaktor im allgemeinen sehr gering waren, daher eine Bestätigung der L o e w s c h e n Ansichten aus den Versuchen nicht abgeleitet werden kann. Die verschiedene Gestaltung des Verhältnisses von CaO:MgO war im großen und ganzen ohne wesentlichen Einfluß auf die Entwicklung der Pflanzen geblieben. Selbst auf Böden, die nur 0,08 Proz. CaO und 0,04 Proz. MgO resp. 0,067 Proz. CaO und 0,09 Proz. MgO enthielten, blieb eine Zufuhr von Kalk und Magnesia bei manchen Pflanzen ohne Einfluß auf den Ertrag.

Von starker Einwirkung auf die Höhe der Ernteerträge war die Beschaffenheit der Böden. Trotz der reichlichen Grunddüngungen mit 1 g N, 1,5 g K₂O und 1,5 g P₂O₅ pro Gefäß wiesen die Ernten beträchtliche Unterschiede auf. Die chemisch-physikalische Untersuchung der Böden vermochte diese Differenzen nicht in allen Fällen zu erklären. Besonders die in ihrer Zusammensetzung sich sehr ähnlichen kalkarmen Böden 1 und 2 zeigten in ihrer Ertrags-

fähigkeit starke Unterschiede, die durch die ausgeführten Bestimmungen nicht zum Ausdruck gebracht worden sind.

Die Verff. benutzen das umfangreiche Versuchsmaterial des weiteren zu eingehenden Darlegungen über die Ausnutzung des Kalks und der Magnesia durch die angebauten Pflanzen, über den Einfluß, den die Kalk-Magnesia-Düngung auf die Aufnahme der übrigen Pflanzennährstoffe ausübte, über die Bedeutung der verschiedenen Löslichkeit und Absorption der Kalk-Magnesia-Dünger usw. An dieser Stelle sollen nur noch die von H. F i s c h e r ausgeführten Untersuchungen über die Wirkung der Magnesia und Kalk-Magnesia-Mischungen auf den Keimgehalt des Bodens erwähnt werden. Auch die hierbei erhaltenen Resultate sprechen nicht dafür, daß ein bestimmtes Verhältnis von Kalk zu Magnesia im Boden die Mikroorganismenentwicklung in besonderer Weise begünstigt. Zugaben von Kalk und Magnesia verursachten allerdings eine enorme Vermehrung der Bodenbakterien, die nicht ohne Einfluß auf das ganze Verhalten des Bodens bleiben kann. Verf. erklärt bei dieser Gelegenheit, wie schon häufiger, daß nach seiner Ansicht die Zahl der Bodenkeime eine bessere Beurteilung der bakteriellen Bodenverfassung zulasse, wie die Bestimmung der Wirkungsintensität der Bakterien nach der R e m y schen Methode, „denn die Aktivität der Bakterien ist eben in allererster Linie Vermehrung“. Dieser Auffassung wird man kaum zustimmen können, wenn auch die gegen die Verwendung von Flüssigkeiten nach den ursprünglichen Vorschlägen R e m y s erhobenen Einwände zum Teil als berechtigt bezeichnet werden müssen.

Bei Benutzung eines besonderen Nährbodens (unter Zusatz von etwas Soda hergestellter Bodenextrakt mit 0,2 Proz. K_2HPO_4 und 1,25 Proz. Stangenagar) sind in bestimmten Fällen — 10 Wochen lange Einwirkung der Karbonate von Kalk und Magnesia — über 2 Milliarden Keime pro 1 g feuchte Erde festgestellt worden, eine Menge, die auf etwa 0,2 Proz. des frischen Bodens geschätzt werden dürfte.

V o g e l (Bromberg).

Lemoigne, Bactéries dénitrifiantes des lits percolateurs. (Compt. rend. hebd. de l'Acad. des scienc. Paris. T. 152. 1911. p. 1873—1875.)

Zwei dem *Bac. subtilis* nahestehende, aus Tropfkörpern isolierte Bakterien reduzierten Nitrat (ohne Stickstoff-Verlust) zu Ammoniak rasch bei vermindertem, nicht bei völligem Luftabschluß. Weitere Untersuchungen über denitrifizierende Bakterien i. e. S. werden angekündigt.

L ö h n i s (Leipzig).

Simon, Über die Herstellung der Azotogen-Impfstoffe für Hülsenfrüchte. (Deutsch. landw. Presse. 1911. Nr. 22).

Verf. schildert seine auf Gewinnung hochwirksamer Knöllchenbakterienstämme gerichtete Versuchstätigkeit. Er gelangte zu Kulturen von großer Impftüchtigkeit, indem er mit den aus besonders stark entwickelten, mit einem hohen Stickstoffsammelungsvermögen ausgestatteten Wurzelknöllchen isolierten Reinkulturen nicht Vollimpfungen, sondern nur ganz schwache, normalerweise ungenügende und dem Effekt einer Spontaninfektion nahekommende Impfungen ausführte. Es entstanden dann wenige, aber außerordentlich große Knöllchenwucherungen, von deren Erregern eine besondere Wirksamkeit erwartet werden konnte.

Als geeignetsten Nährboden für die Weiterzüchtung der gewonnenen Kulturen erkannte Verf. nach eingehenden Untersuchungen über die Wider-

standsfähigkeit der Knöllchenbakterien gegen Austrocknen, über den Einfluß der Humusstoffe usw. die Ackererde selbst. Diese erschien schon deshalb als ein besonders zusagendes Substrat, weil erfahrungsgemäß bei häufigerem Anbau einer Hülsenfrucht auf geeignetem Boden in diesem eine bedeutende Vermehrung der notwendigen Knöllchenbakterien eintritt, die sich außerdem gewöhnlich von so großer Wirksamkeit erweisen, daß eine künstliche Impfung in derartigen Fällen meist erfolglos bleibt. „Die Eigenart der Azotogenkulturen kommt also vornehmlich in 2 Phasen ihrer Herstellung zum Ausdruck, in der Gewinnung des Ausgangsmaterials und in der Methode der Vermehrungszuchten, endlich auch in der fertigen Form des Impfstoffes als feuchte Erdkultur, welche die Art seiner Verwendung bedingt und naturgemäß sehr einfach ist.“
V o g e l (Bromberg.)

Felsinger, L., Stickstoffbindung und -entbindung. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswes. in Österreich. Bd. 14. 1911. p. 1039—1103.)

Es wurde untersucht, inwiefern das Verhältnis von gebundenem Stickstoff zu aufnehmbarem Kohlenstoff in mit Erde geimpften Nährlösungen den Verlauf der Stickstoffbindung bzw. Stickstoffentbindung beeinflusst. Ist viel löslicher Kohlenstoff und wenig gebundener Stickstoff vorhanden, so dominiert die Stickstoffbindung, weniger C und mehr N bedingt Stickstoffentbindung, sehr wenig C hat Stickstoffterhaltung zur Folge. Im natürlichen Verlaufe wechselt das Verhältnis C: N ständig und strebt einem Gleichgewichtszustand zu.

Als Stickstoffquellen wurden geprüft: Ammon, Nitrit und Nitrat, sowie organischer Stickstoff in Form von Kleeheu, Pferdebohnen, Baumwollsaatmehl, Blutmehl, Stroh, Stallmist, Pferdefaeces und Pferdeharn. Als C-Quelle diente Dextrose, sowie die Kohlenstoff-Verbindungen in den genannten Substanzen. Die mineralische Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung: 100 destill. Wasser, 1 CaCO_3 , 0,05 K_2HPO_4 , 0,01 Na_2SO_4 , 0,01 FeSO_4 , 0,02 MgSO_4 , 0,01 Kochsalz; in einigen Fällen wurde außerdem noch 0,01 MnSO_4 hinzugefügt. Als passendste Impfmenge erwies sich 0,1 g Erde pro 100ccm. Die Dextrose-Versuche wurden beendet, sobald keine Dextrose mehr nachzuweisen war; diejenigen mit den verschiedenen organischen Substanzen liefen 1—2 Monate. Wegen des Dextrosenachweises, der mikrochemisch mittels salzsaurem Phenylhydrazins geführt wurde, muß auf das Original (p. 1044 bis 1048) verwiesen werden. Die Versuche verliefen bei 28 °C teils aërob (in 300 ccm-Erlenmeyer-Kolben) teils anaërob. Z. T. wurde der in der Lösung und in der Bakterienmasse vorhandene Stickstoff getrennt ermittelt; zum Abfiltrieren dienten in diesen Fällen „Blaubandfilter“ (von Schleicher und Schüll), die ziemlich bakteriendicht befunden wurden.

Bei allen Nitrat-, Nitrit- und Ammonversuchen ergab sich übereinstimmend C-N-Gleichgewicht bei 100 (C) : 0,5—1 (N). Das Maximum der Nitrat-Assimilation wurde (in den aëroben Versuchen) bei 30—40, dasjenige der Nitrit-Assimilation bei 20 mgN pro 1 g Dextrose gefunden. Sowohl aërob wie anaërob verlief die Denitrifikation in den stickstoffreichen Lösungen in zwei durch eine mehrtägige Pause getrennten Phasen. Ein 5 Monate fortgesetzter Nitrat-Versuch (in dem 0—60 mg N zugesetzt wurden) ergab am Schluß fast in allen Kolben gleiche N-Mengen (ca. 6—7 mg), nur in den nicht mit Nitrat versetztem Gefäß stieg die N-Zahl bis auf reichlich 9 mg an. Durchweg fand sich der vorhandene Stickstoff etwa zur Hälfte als Nitrat, zur anderen Hälfte in organischer Form.

Bei den aëroben Versuchen mit größeren Ammoniakmengen scheint Stickstoffentbindung infolge Ammoniakoxydation Platz gegriffen zu haben. Die betr. Zahlen sind indessen nicht völlig überzeugend.

Die zum Versuch herangezogenen organischen Substanzen wurden zwecks Herstellung der verschiedenen C-N Relationen mit Stroh vermischt und zwar jedesmal in folgenden Verhältnissen: 5:0, 4:1, 3:2, 1:4, 0:5. Je nach dem höheren oder niederen N-Gehalt der betreffenden Substanz ergab entweder nur das Stroh allein oder auch die weiteren Mischungen N-Gewinn bzw. N-Verlust. Der Wechsel von N-Bindung über N-Erhaltung zu N-Entbindung tritt in allen Versuchen sehr deutlich hervor; während die Zahlenwerte natürlich im einzelnen differieren. Für die ungleiche Wirkung einer Strohdüngung auf stickstoffarmen resp. auf stickstoffreichen Böden lassen sich allerhand interessante Schlüsse aus dem gelieferten Zahlenmaterial ziehen, desgleichen über den Erfolg einer Düngung mit anderen pflanzlichen oder mit tierischen Stoffen. Hervorzuheben ist, daß auch Pferdefaeces lebhaft Stickstoffbindung ermöglichen.

Wie sich diese Verhältnisse im Boden selbst gestalten, bleibt noch zu prüfen. Voraussichtlich werden sich wohl nur relative Abweichungen herausstellen, während die hier ermittelte prinzipielle Bedeutung des C-N-Verhältnisses erneute Bestätigung erfahren dürfte. L ö h n i s (Leipzig).

Kellerman, K. F., Nitrogen Gathering Plants (Yearbook U. S. Departm. of Agricult. f. 1910. p. 213—218, w. 8 plat.).

Die Arbeit enthält größtenteils vorzüglich reproduzierte Photogramme der Wurzelknöllchen folgender Pflanzen:

Trifolium, pratense incarnatum und hybridum; Medicago; Pisum; Acacia dealbata, Esterhazia, latifolia, armata cyanophylla und Farnesia; Vigna unguiculata; Soja hispida; Phaseolus lunatus und radiatus; Lupinus; Lathyrus tingitanus; Vicia Faba; Stizolobium Deeringianum; Alnus; Ceanothus americanus und velutinus; Lepargyrea canadensis; Elaeagnus; Encephalartos villosus und horridus; Cycas circinalis und Seemannii.

Die verschiedenen Formen-Gruppen sind beschrieben und die Bedeutung der stickstofffixierenden Pflanzen für Erhaltung und Ersatz des Bodenstickstoffs erörtert. Es wird empfohlen, die stickstoffbindenden Nichtleguminosen sowie die wildwachsenden Leguminosen mehr zu beachten und sie eventuell zur Anreicherung gegenwärtig nicht kultivierten Landes zu benutzen.

L ö h n i s (Leipzig).

Stutzer, A., Über Nitride in ihren Wirkungen auf Pflanzen. 82. Versamml. deutsch. Naturf. u. Ärzte in Königsberg i. Pr. v. 18.—24. Sept. 1910. Beiblatt zum Tagesprogramm.)

Vegetationsversuche bei Zugabe von Stickstoffsilicium zu dem Boden sollten feststellen, ob die Zersetzung dieser Verbindung unter Bildung von Ammoniak im Boden so schnell vor sich gehe, daß die Pflanzen vom letzteren Körper einen wesentlichen Nutzen haben. Es wurde leider während einer ganzen Vegetationsperiode zu wenig Ammoniak gebildet, so daß das Nitrid als Düngemittel nicht in Betracht kommt. Andere Nitride verhielten sich auch so. Sollten künftighin Nitride noch billiger hergestellt werden können, so dürften sie doch eine große Rolle in der Landwirtschaft als Düngstoffe führen, da die Fabriken jetzt betreibt sind, die Nitride mittelst Lauge oder

mittels Säuren unter Druck in Ammoniak und in andere nutzbare Nebenprodukte zu verwandeln. Matouschek (Wien).

Heinze, B., Kalkstickstoff und Kalksalpeter als Stickstoffdünger (Jahresber. d. Vereinig. f. angew. Botanik. Bd. 8. 1910. p. 79—94).

Neu ist in dem referierenden Vortrage nur die Angabe (p. 89), daß nach Verf's. Beobachtungen das Cyanamid im Boden „zum Teil wenigstens“ auf rein chemischem Wege in Ammoniak verwandelt werden soll.

Löhnis (Leipzig.)

Popp, Impfversuche mit Azotogen. (Deutsch. landw. Presse. 1911. Nr. 42).

Die Versuche wurden auf Hochmoorboden nach folgendem Plan ausgeführt: 1. Ungeimpft, 2. Samenimpfung mit Gelatinekulturen, 3. Samenimpfung mit Erdkulturen, 4. Bodenimpfung mit Erdkulturen. Der Moorboden war bereits seit 11 Jahren in Kultur und mit Marschboden von Weideland überfahren worden, mit welchem er sich seitdem innig vermengt hatte. Leguminosen hatte das Feld nie getragen, besonders keine Pferdebohnen, die als Versuchspflanze dienten. Es wurde an Trockensubstanz (Bohnen + Stroh) geerntet:

1. Ungeimpft:	37,86 kg
2. Samenimpfung mit Gelatinekulturen:	51,92 „
3. „ mit Erdkulturen:	55,92 „
4. Bodenimpfung mit Erdkulturen:	49,05 „

Demnach waren in allen Fällen durch die Impfung bedeutende Ertragssteigerungen erzielt worden, die am größten waren bei Anwendung der Samenimpfung. Vogel (Bromberg).

Schulze, B., Die Leistung des Nitrits bei Vegetations- und Feldversuchen. (Fühlings landw. Ztg. 1911. p. 346).

Die Düngewirkung von Chilesalpeter, Norgesalpeter und Calciumnitrit wurde zunächst bei Gefäßversuchen in 2 Jahren mit verschiedenen Pflanzen (Hafer, Senf, Sommerweizen) festgestellt. Wenn die Chilesalpeterleistung = 100 gesetzt wird, so ergab sich

bei Zufuhr von 0,4 g N pro Gefäß in Form von	
Norgesalpeter ein Mehrertrag von	112
Calciumnitrit „ „ „	101,
bei Zufuhr von 0,8 g N pro Gefäß in Form von	
Norgesalpeter ein Mehrertrag von	97
Calciumnitrit „ „ „	93.

Die Ausnutzung des Stickstoffes war eine recht gleichmäßige, sie betrug bei allen drei Düngemitteln etwa 71—75 Proz. der angewandten Menge.

Ein wesentlich anderes Resultat wurde bei einem Feldversuch auf schwerem Boden mit Hafer als Versuchspflanze erzielt. Die Stickstoffgabe betrug auf den Morgen berechnet 4,3 kg, war also verhältnismäßig schwach. Während die Wirkung des Norgesalpeters eine ausgezeichnete war, versagte das Calciumnitrit vollständig, es brachte keinen Mehrertrag hervor. „Entweder ist auf diesem schweren Boden eine Umwandlung des Nitrits in Nitrat nicht erfolgt oder aber, es ist das Nitrit von den Bodenbakterien so stark in Beschlag genommen worden, daß für den Übergang in den Hafer nichts übrig blieb, und vielleicht eine Nachwirkung dieses Stickstoffes erst in späteren Zeiten bemerkbar werden könnte“.

Bei Beurteilung des Nitrits als Felddünger darf man sich daher durch die günstigen Resultate der Gefäßversuche nicht bestechen lassen, und es muß gefordert werden, daß die stickstoffhaltigen Düngemittel, die Oxydationsprodukte des Stickstoffs enthalten, nur aus Nitraten bestehen, sofern sie zur Verwendung in der Landwirtschaft bestimmt sind.

Vogel (Bromberg).

von Wlodek, Beiträge zur Frage der Ammoniakverdunstung und -umwandlung im Boden. [Inaug. Dissertat.] Berlin 1911.

Verf. bespricht einleitend diejenigen Faktoren, die auf die Ausnutzung des Ammoniakstickstoffs durch die Kulturpflanzen von Einfluß sein können und bringt im Anschluß hieran eine ausführliche Literaturbesprechung.

Bei eigenen Versuchen erhielten Bodenmischungen mit verschiedenem Gehalt an abschlämmbaren Teilen und Humus Zugaben von Kalziumkarbonat und von Ammoniaksalz in Form von Ammoniumsulfat und Ammoniak-Superphosphat. Die Stickstoffgabe betrug pro 100 g Boden 10 bzw. 20 mg. Die Gefäße, in welchen die Versuche ausgeführt wurden, standen während der 24tägigen Versuchsdauer im Freien. Nach Ablauf dieser Zeit wurde in näher mitgeteilter Weise die analytische Bestimmung der vorhandenen Stickstoffformen vorgenommen.

Verf. gelangt zu folgenden Resultaten: Bei Düngung mit Ammoniumsulfat traten unter normalen Verhältnissen geringe Stickstoffverluste auf. Diese waren beträchtlich höher bei hohem Kalkgehalt und starker Ammoniakdüngung. Bei Verwendung von Ammoniak-Superphosphat wurden keine oder nur sehr geringe Verluste beobachtet, auch tiefes Unterbringen des Ammoniaksalzes scheint die Ammoniakverdunstung zu verringern. In den mit Ammoniak gedüngten Lehm Böden war eine geringe Stickstoffassimilation zu beobachten, der leichte Boden zeigte nur nach Zugabe von Ammoniak-Superphosphat eine sehr geringe Stickstoffzunahme. Im leichten Boden war die Nitrifikation unter den Bedingungen des Versuchs energischer als im Lehm Boden. In jenem wurden 45, in diesem nur 21 Proz. des zugegebenen Ammoniaks in Salpeter umgewandelt. Höherer Kalkgehalt und tieferes Unterbringen der Ammoniaksalze waren für die Nitrifikation günstig. Der Stickstoff im Ammoniak-Superphosphat wurde in gleicher Weise nitrifiziert wie der des Ammoniumsulfats.

Die Ammoniakfestlegung war in allen Fällen ziemlich bedeutend und übertraf meistens die Ammoniakverdunstung. Größere Kalkzugaben, Düngung mit Ammoniak-Superphosphat und bei kleiner Stickstoffgabe die tiefere Unterbringung der Düngung scheinen die Festlegung herabgedrückt zu haben. Die Art des Bodens übte auf die Festlegung keinen wesentlichen Einfluß aus. Die Zunahme an organisch gebundenem Stickstoff ging nicht parallel mit seiner Abspaltbarkeit, je nach den Umständen kann der festgelegte Stickstoff leicht oder schwer zersetzbar sein. Umstände, welche für die Dauersporenbildung und die Entwicklung der Pilze nicht günstig sind, haben die Bildung von schwer zersetzbarem Stickstoff in organischer Form gehemmt.

Vogel (Bromberg).

De Grazia, S., Su l' intervento dei microorganismi nell' utilizzazione dei fosfati insolubili del suolo da parte delle piante superiori. (Stazioni sperim. agrarie. Vol. 43. 1910. p. 179—184.)

Verf. hat seine Versuche über Auflösung von Tricalciumphosphat durch

Mikroorganismen unter Chloroformzusatz wiederholt und eine Löslichmachung ebenfalls beobachtet. Außer der Wirkung ausgeschiedener Säuren dürfte nach Verf. auch eine direkte hydrolytische Wirkung enzymatischer Stoffe auf den Phosphat anzunehmen sein. Pantanelli (Rom).

Thaer, Willi, Der Einfluß von Kalk und Humus auf die mechanische, physikalische und chemische Beschaffenheit von Ton-, Lehm- und Sandboden. (Gekrönte Preisschr.) Göttingen 1910.

Verf. gibt eine übersichtliche Darstellung der vielseitigen chemischen und physikalischen Wirkungen von Kalk und Humus auf den Boden, und berücksichtigt hierbei besonders die aus der Einwirkung der genannten Stoffe auf die Bodenkolloide sich ergebenden Vorgänge. Da von diesen Prozessen auch der biologische Charakter des Bodens stark beeinflußt wird, so dürfte ein etwas näheres Eingehen auf die Darlegungen des Verf. an dieser Stelle gerechtfertigt sein.

Die Kolloide werden durch Kalk gefällt. Dadurch wird eine Änderung des chemischen und physikalischen Verhaltens der Böden bewirkt, die nicht ohne Einfluß auf die Resultate mancher Untersuchungsmethoden des Bodens bleiben kann, und auch der Humus als Träger der Kolloide wird den gesamten Charakter des Bodens weitgehend bestimmen.

Zu den Versuchen wurden 6 verschiedene Bodenarten verwendet, die sich in ihrer physikalischen und chemischen Beschaffenheit, insbesondere in ihrem Gehalt an abschlämmbaren Teilen und Humus erheblich unterschieden. Die Böden konnten charakterisiert werden als humusarmer Ton und Lehm, als humoser Lehm, humoser Sand, Kompost und Sand. „Diese Böden erhielten Zusätze von 1 Proz. Ätzkalk, wurden auf einen bestimmten günstigen Wassergehalt gebracht und eingehend hinsichtlich der Veränderungen untersucht, welche die Kalkung bewirkt hatte. Zunächst ergaben Ermittlungen des Kalkgehaltes der 40 Tage mit den Kalkzusätzen versehen gewesenen Proben, daß erhebliche Differenzen zwischen den an Kohlensäure gebundenen und den aus dem Säureverbrauch berechneten Kalkmengen bestanden. Diese waren darauf zurückzuführen, daß CaO und MgO z. T. an schwache Kolloidsäuren gebunden waren. Der gesamte in Salzsäure lösliche Kalk war also in den benutzten Böden an Kohlensäure und kolloidale Säuren gebunden.

Verf. führt im Einzelnen aus, daß die durch Kalk bewirkte Veränderung der Bodenkolloide von beträchtlichem Einfluß auf die physikalischen Bodeneigenschaften sein muß und erklärt die bekannte günstige Wirkung einer Kalkung auf die mechanische Beschaffenheit mancher, besonders der schweren, Böden. Das Kalzium als positiv geladene zweiwertige Base wirkt stark auf die negativen Kolloide des Bodens ein, es verursacht eine Gerinnung und dadurch eine Änderung ihrer plastischen Eigenschaften. Dadurch wird die Bodenstruktur eine wesentlich andere, die Adhäsion der Einzelteilchen wird verringert, es tritt Krümelstruktur ein. So ist es erklärlich, daß der Kalk einen bedeutenden Einfluß auf die Durchlässigkeit ausübt, er vermindert den Widerstand, den der Boden dem eindringenden Wasser entgegensetzt, trägt also zu einer Vermehrung der Sickerwassermengen bei. „Die Ausflockung der Kolloide und die damit verursachte Krümelung des Bodens mit gleichzeitiger Vermehrung der Poren muß eine größere Durchlässigkeit bewirken.“ Entsprechende Versuche ergaben, daß die Vermehrung der Durchlässigkeit durch Kalkung annähernd proportional dem Gehalt an abschlämmbaren Teilen ist.

Die Bodenkolloide und Suspensionen werden also durch die Kalkung eine körnige Struktur erhalten. Die Gefahr eines Zuschlammens des Bodens wird dadurch verringert, und die Zirkulation sowie das Herabfließen des Regenwassers befördert.

Die Wasserkapazität, die in weitgehendster Weise von dem Gehalt an abschlämmbaren Teilen und an Humus beeinflusst wird, erfährt durch die Kalkung in allen Fällen eine Erhöhung. Hieraus resultiert ein bemerkenswerter Vorteil für die Wasserversorgung der Pflanzen.

Eingehende Untersuchungen widmete Verf. dem Einfluß des Kalkes auf die Bearbeitbarkeit des Bodens. Er betont, daß auch diese Kalkwirkung durch die Beeinflussung der Bodenkolloide befriedigend erklärt werden kann. Eigene Versuche ergaben, daß die Kalkgaben die Bearbeitbarkeit erleichterten, und zwar in absoluten Zahlen proportional dem Gehalt an abschlämmbaren Teilen, in relativen Zahlen umgekehrt proportional. Der Schwund wurde durch die Kalkung verringert. Die Hygroskopizität war in dem gekalkten Boden geringer, da durch die Kolloidfällung eine Oberflächenverkleinerung entstanden ist.

Durch Kalk werden die löslichen organischen Kolloide irreversibel gefällt, während sie durch Trocknung nur vorübergehend verändert werden. Daher wird die der Benetzung über 10 proz. Schwefelsäure vorausgehende Trocknung, die bei der Hygroskopizitätsbestimmung nach Mitscherlich vorgeschrieben ist, keine weitere Wirkung ausüben. In dem ungekalkten Boden sind alle Kolloide im Urzustand. Die Trocknung wird eine Fällung derselben bewirken, die aber nur bei den nicht auswaschbaren dauernd ist. Die löslichen Kolloide sind nur reversibel verändert und werden bei Benetzung wieder in den alten Zustand übergehen.

Auch unter den Humussubstanzen des Bodens treffen wir reversible und irreversible Kolloide an. Verf. gibt ein Verfahren zur Bestimmung dieser wertvollen Humusanteile an und bespricht alsdann den Einfluß der Humuskolloide für sich allein und bei Gegenwart von Kalk auf die wichtigeren physikalischen Bodeneigenschaften.

Es folgen Betrachtungen über die Beeinflussung der chemischen Beschaffenheit des Bodens durch Kalk und Humus. Bei dieser Gelegenheit geht Verf. auf die Begünstigung des Bakterienlebens durch Kalkzufuhr etwas näher ein und hebt den Einfluß der Reaktionsänderung und der durch Basenaustausch bewirkten Lösung von Nährstoffen hervor. Aus eigenen Untersuchungen schließt Verf., daß die Menge wasserlöslicher Kohlenstoffverbindungen durch die Kalkung vermehrt worden ist, d. h., daß unter dem Einfluß des Kalkes eine verstärkte Bildung von Humuskolloiden aus unzersetztem organischem Material stattfand.

Die Gesamtmenge der aus Boden mit Wasser extrahierbaren Stoffe wurde durch die Kalkung erhöht. Hierfür kommen nach Ansicht des Verf. die folgenden Vorgänge in Betracht:

1. Die Zersetzung des Humus und dadurch vermehrte Bildung von Humuskolloiden und Aschen.
2. Die lösende Einwirkung der Zersetzungsprodukte des Humus.
3. Die bessere Ventilation des Bodens.
4. Die durch Basenaustausch entstehenden wasserlöslichen Verbindungen.
5. Die ätzende Wirkung der anfangs entstehenden Lauge.
6. Die vermehrte Bildung von $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$.

Verf. verbreitet sich ausführlich über die Bedeutung des durch Zufuhr von Kalk bewirkten Basenaustausches und der damit zusammenhängenden Absorptionskraft des Bodens, als deren Sitz die Zeolithe zu betrachten sind.

Bei der chemischen Wirkung des Humus ist zunächst seiner Rolle als Nährstoff für die Bakterien und Pilze des Bodens zu gedenken. Für den Zusammenhang zwischen Pilzvegetation und Humussäurebildung gibt Verf. unter Bezugnahme auf die B a u m a n n schen Untersuchungen folgende Erklärung: Die höheren und niederen Pflanzen sind in ihrer Absorptionskraft für Basen verschieden. Die anspruchsvollen Kulturgewächse weisen die geringste Absorptionskraft auf, die Unkräuter und weniger edlen Pflanzen gehören einer absorptionskräftigeren Gruppe an. „Noch weiter in der angegebenen Richtung ständen wahrscheinlich die Bakterien und an dem extremsten Ende der Reihe die Pilze.“ Diese würden vermöge ihrer starken Absorptionskraft imstande sein, aus den im Boden befindlichen Pflanzenresten die Basen zu entnehmen und damit die Struktur derselben zu zerstören. Die Folge davon wäre ein Zerfall in aschenärmere Produkte, die entweder selber sauer oder durch ihre eigne Absorptionskraft sauer reagierten. Zwar wären diese den Pilzen in dieser Hinsicht unterlegen, den Bakterien und den meisten höheren Pflanzen, mit Ausnahme der säureliebenden, aber überlegen.

Nach weiteren Betrachtungen über Lösung von Nährstoffen, sowie über Absorption und Basenaustausch durch die Humusstoffe des Bodens faßt Verf. die über die chemische Wirkung von Kalk und Humus bekannten Tatsachen in folgender Weise zusammen:

1. Saurer Humus wird neutralisiert.
2. Der Boden wird alkalisch und für Bakterienentwicklung besonders geeignet.
3. Der Einfluß auf die im Humus lebenden niederen Organismen ist günstig.
4. Das Leben bodenzersetzender Bakterien wird gefördert und die von ihnen erzeugten überschüssigen Säuren werden abgestumpft.
5. Die Kohlensäureentwicklung wird vermehrt und unter Umständen der Humus in so hohem Maße zersetzt, daß der Boden daran verarmt.
6. Die Lösung der Pflanzennährstoffe aus dem Humus wird beschleunigt.
7. Die Absorption für Basen wird durch Vermehrung der Kolloide gesteigert.

Es folgt noch ein kurzer Bericht über kolloidchemische Studien am Humus. Die Humuskolloide wurden aus wäßrigen Bodenauszügen mit Alkohol gefällt und in näher beschriebener Weise gereinigt. Es sind auch Versuche zur Gewinnung von Bodenkolloiden durch Dialyse und Ultrafiltration ausgeführt worden, die Alkoholfällung bewährte sich jedoch am besten. Die gewonnenen Humuskolloide wurden zu Untersuchungen über ihre chemische Zusammensetzung und Teilchengröße, elektrische Ladung, Diffusionsvermögen, Einwirkung von Trocknung und Frost verwendet. Verf. tritt der bekannten B a u m a n n schen Ansicht über die Humussäuren, nach welcher diese nicht befähigt sein sollen, echte Salze zu bilden, nicht bei. Das in den gefällten Humuskolloiden stets vorhandene Kalzium war chemisch gebunden, stellte also das Salz einer Humussäure dar. Stickstoff scheint zum Molekül der Humussäuren zu gehören und in Form von Amidosäuren oder ähnlichen Verbindungen in ihnen enthalten zu sein.

„Aus dem Aussehen von Lösung und Fällungen ging als sicher hervor, daß wir zum mindesten zwei verschiedene Humussäuren vor uns haben, wenn

auch gegenseitige Verunreinigungen keineswegs ausgeschlossen war. Trotzdem waren die aus gekalktem Boden extrahierten Kolloide in ihrer Farbe und Teilchengröße von denen des ungekalkten deutlich zu unterscheiden.“

Die Humuskolloide vermochten bis zu einem gewissen Grade Kollodiummembranen zu durchdringen, die Diffusionsgeschwindigkeit war jedoch geringer als bei den Elektrolyten. Die Teilchengröße war, da die Humuskolloide amikroskopisch sind, nicht feststellbar. V o g e l (Bromberg).

Bönisch, E., Zersetzung und Wirkung organischer Stickstoffdünger. [Diss. phil.] Leipzig 1911.

Die Arbeit bildet die Fortsetzung der von A. E. P a r r und W. S t e r n ausgeführten Untersuchungen ähnlicher Art. Hornmehl, Blutmehl, Fleischmehl und Knochenmehl wurden im Umsetzungsversuche auf ihre Zersetzlichkeit und im Feld-Düngungsversuch auf ihre Stickstoff-Wirkung geprüft. Zum Versuche wurden zwei verschiedene Böden (schwerer, diluvialer Lehm und lehmiger alluvialer Sand) herangezogen. Zwecks Prüfung der Wirksamkeit sporenbildender und anaerober Bakterien wurden die zu den Umsetzungsversuchen dienenden Lösungen nach der Impfung mit Erde z. T. pasteurisiert bzw. unter Luftabschluß gebracht.

Die Resultate der Umsetzungs- und der Feldversuche stimmten nur teilweise überein. Z. T. haben die Abweichungen sicher ihren Grund in Mängeln des Laboratoriumsversuches, z. T. sind aber auch Unregelmäßigkeiten bei den Feldversuchen in Betracht zu ziehen; die Ergebnisse der Parallelpärzellen zeigen z. T. recht erhebliche, auf vorher nicht erkannte Ungleichheiten der Bodenbeschaffenheit zurückzuführende Abweichungen.

Pasteurisieren sowie Luftabschluß haben nicht, wie erwartet wurde, fördernd, sondern meist deutlich hemmend auf den Verlauf der Umsetzungen eingewirkt. Desgleichen übertrafen die isolierten Reinkulturen sporenbildender und anaerober Arten in ihrer Befähigung zur Ammoniakbildung nicht diejenigen aërober sporenfreier Kurzstäbchen. Unter diesen traten verschiedene *Proteus*-formen sowie *Bact. radiobacter* am häufigsten auf. Die Umsetzungsintensität schwankte bei den verschiedenen Stämmen einer Art wiederum innerhalb ziemlich weiter Grenzen. Am wirksamsten erwiesen sich im allgemeinen mehrere gelb pigmentierte Kurzstäbchen (*Bact. ochraceum*, *cremoides* und *turcosum*). L ö h n i s (Leipzig).

Störmer, Versuche über die Beeinflussung der Wirkung des Gründungs-Stickstoffs durch Zugabe von Stroh. (Fühlings landwirtschaftl. Ztg. 1911. p. 185).

Verf. ging bei mehreren eingehend beschriebenen Feld- und Gefäßversuchen von der Erwägung aus, daß die Zersetzung der Gründüngersubstanz durch die Beigabe kohlehydratreicher Stoffe vielleicht günstig beeinflußt werden könne, etwa durch Festlegung eines Teiles der sich bildenden löslichen Stickstoffformen. „Durch die Zusammenkuppelung von Gründungsstickstoff und Strohkohlehydrat sowie Zellulose sollte also gleichsam eine Stallmistbereitung im Boden erfolgen und damit jene alte Kraft gewonnen werden, die einen so wertvollen Faktor in der Ackerkultur darstellt“.

Die auf dem schweren Lehmboden des Versuchsfeldes Oberholz bei Leipzig zunächst ausgeführten Freilandversuche erbrachten negative Ergebnisse, die Strohbeigaben verursachten keine Erhöhung der Gründüngerwirkung, sie setzten diese vielmehr um ein geringes herab und bewirkten für sich allein

beträchtlichere Erntedepressionen. Gefäßversuche bestätigten dieses Resultat. Eine bessere Wirkung des Gründünger-Stroh-Gemenges war weder in der Trockensubstanz- noch in der Stickstoffernie bemerkbar. Es zeigte sich vielmehr im 1. Versuchsjahre (1907), in welchem die Gefäße Hafer und als Nachfrucht Senf trugen, eine Herabsetzung der Gründüngerwirkung. Das beigegebene Stroh schien also festlegend auf den Gründüngerstickstoff gewirkt zu haben, es konnte daher eine bemerkenswerte Nachwirkung der Strohbeigaben erwartet werden. Eine solche trat auch ein, doch wurde im 2. Jahre nur der Ertragsausfall des 1. Jahres nachgeholt. „Feld- wie Topfversuche haben also das übereinstimmende Resultat ergeben, daß durch die Beigabe von Stroh zur Gründüngung eine bessere Ansnutzung des Stickstoffes unter den Oberholzer Bodenverhältnissen nicht zu erreichen war“.

Bei Gefäßversuchen mit Sandboden erhöhten die Strohzusätze zur Gründüngung den Trockensubstanzertrag in geringem Maße, die Stickstoffernie erfuhr dagegen keine Steigerung. (Es bestätigte sich hier die Beobachtung des Ref., daß Strohdüngungen zur Gewinnung von prozentisch stickstoffarmen Früchten führen. Siehe diese Zeitschr. Bd. 27. p. 603. Ref.).

Die Ausnützung des Gründüngungsstickstoffes war am höchsten, wenn keine Strohbeidüngung gegeben war. Sie betrug im vorliegenden Falle:

a) beim s c h w e r e n Boden im Feldversuch: 14 Proz. (1. Jahr)

0 „ (2. Jahr)

im Gefäßversuch: ca. 40 „ (1. Jahr)

0 „ (2. Jahr)

b) beim l e i c h t e n Boden im Gefäßversuch: ca. 40 Proz. (1. Jahr)

Verf. ist der Ansicht, daß die geringe Ausnützung des Gründüngerstickstoffs auf Verluste in Form von freiem Stickstoff zurückzuführen ist. Er wird in dieser Auffassung durch die Beobachtung bestärkt, daß Schwefelkohlenstoffbeigaben nicht imstande waren, den nicht zur Wirkung gekommenen Gründüngerstickstoff zu mobilisieren, dieser also wohl völlig in Verlust geraten war. Da der anfänglich vorhandene organische Stickstoff sicher nur zum kleinsten Teile nitrifiziert worden ist, so wird es sich weniger um Denitrifikationsvorgänge gehandelt haben. Es bleibt vielmehr nur die Erklärung übrig, „daß bei der Zersetzung der als Gründüngung gegebenen organischen Stickstoffverbindungen ein Teil bis zu freiem Stickstoff abgebaut wird und in die Luft entweicht.“

V o g e l (Bromberg.)

Varga, Oskar u. Csókás, Gyula, Mykologiai tanulmány a kender és len áztatásáról. [= Mykologische Studie über die Flachs- und Hanfröste.] (Kisérletirnyi Közlemények. Bd. 8. 1910. p. 1—52.)

1) In Stengeln des Leines fanden Verf. Pectinstoffe nur in den Zellmembranen und Mittellamellen des Rindenparenchyms. Diese zerfallen infolge einer Pectingärung, die im Laufe des Röstprozesses auftritt. In der Röstflüssigkeit treten viel aerobe Mikroorganismen auf, die den Sauerstoff der vom Wasser absorbierten Luft verbrauchen und so den Luftzutritt verhindern. Verff. untersuchten besonders ein dem Störmerschen *Plectridium pectinovorum* nächstverwandtes Bakterium von ziemlicher Größe. Die Kulturversuche ergaben: Dieses Bakterium deckt seinen Stickstoffbedarf nur aus Eiweißstoffen oder aus deren Zerfallprodukten, aber nur bei Gegenwart von Kohlehydraten gedeiht es. Aus letzteren verarbeitet es Arabinose und Pectinstoffe. Sind letztere ursprüngliche, so werden sie leichter verarbeitet, als wenn sie künstlich dargestellte sind. An sterilen Stengeln konnte nach

18*

Impfung mit den Reinkulturen unter Luftabschluß die normale Röstung eingeleitet und durchgeführt werden.

2) Das Rösten des Hanfes im Wasser verlief ebenso wie jenes des Leines. Die sog. Tauröstung verursachen aber Schimmelpilze, besonders *Cladosporium* oft.
Matouschek (Wien.)

Briosi, Giovanni, Rassegna crittogamica per il primo semestre dell' anno 1907 con notizie sul carbone e la carie dei cereali (Atti del R. Istituto Botan. dell' Univers. di Pavia. Ser. II. T. 12. p. 299—315.)

Von den in der kryptogamischen Station in Pavia während des ersten Halbjahres 1907 untersuchten Parasiten sind die wichtigsten:

Auf der Weinrebe: *Alternaria vitis* Cavr., *Aureobasidium vitis* Viala et Boyer var. *album* Montemartini, *Dematophora necatrix* R. Hart., sowie die üblichen Schädlinge *Plasmopara viticola* (Berck. et Curt.) Berlese et De Toni, *Phytoptus vitis* Land., *Phylloxera vastatrix* Planch.

Auf Cerealien: *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link und *Puccinia graminis* Pers. auf Roggen, *Siphonophora cerealis* Koch, *Thrips secalina* Lind. auf Weizen.

Auf Obstbäumen: *Cladosporium nervisequum* Mont. und *Phyllosticta Eriobotryae* Thüm. auf *Eriobotrya japonica*, *Meliola Penzigi* Sacc. auf *Citrus Aurantium*, *Fusicladium pirinum* (Lib.) Fuck., *Contarinia pyrivora* Riley und *Septoria piricola* Desm. auf *Pirus communis*, *Clasterosporium amygdalearum* (Pass.) Sacc. auf *Prunus domestica* und *Pr. avium* („ciliegio“), *Monilia fructigena* Pers. auf *Pirus malus*.

Auf Gemüsepflanzen: *Uromyces Fabae* (Pers.) De Bary auf *Vicia faba*, *Marsonia Panattoniana* Berl. auf *Lactuca sativa*, Bakteriose auf *Solanum lycopersicum*.

Auf Zierpflanzen: *Botrytis vulgaris* Fr. auf *Pelargonium zonatum* („geranio“), *Septoria Cyclaminis* Dur. et Mont. auf *Cyclamen europaeum* L., *Phragmidium subcorticium* (Schränk.) Wint. auf Rosen, *Septoria Evonymi* Rabh. auf *Evonymus europaea*, *Cercospora nerinella* Sacc. auf *Nerium Oleander*, *Vermicularia trichella* Fr. auf *Hedera Helix*, *Chionaspis Evonymi* Comst. auf *Evonymus japonica*.

Auf Industriepflanzen: *Fusarium lateritium* Nees auf *Morus*, *Antennaria elaeophila* Mont. auf *Olea europaea*, *Phyllosticta platanoides* Sacc. auf *Citrus limonum*, *Gymnosporangium clavariaeforme* (Jacq.) Rees auf *Crataegus Oxyacantha*, *Gloeosporium Theae* auf *Thea viridis*, *Cercospora Nicotianae* E. et E. auf *Nicotiana tabacum* (aus Veracruz eingesandt), *Diaspis pentagona* Targ. auf *Morus*, *Eriophyes tiliae* Pagenst. auf *Tilia*.

Auf sonstigen Pflanzen: *Ramularia Adoxae* (Rbh.) Karst. auf *Adoxa Moschatellina*, *Uromyces Pisi* (Pers.) De By auf *Euphorbia Cyparissias*, *Uromyces Acetosae* Schroet. auf *Rumex acetosa*.

Zur Bekämpfung des Getreidebrandes werden die üblichen Methoden empfohlen.
W. Herter (Tegel).

Briosi, Giovanni, Rassegna crittogamica dell' anno 1909 con notizie sulle malattie dei trifogli e delle vecchie causate da parassiti vegetali. (Bollet. del Minist. di agricolt. industr. e commercio. T. 9. Ser. C. 1910. 12 pp.)

Außer den in obigen Referaten genannten Parasiten wurden im Jahre 1909 u. a. folgende neu beobachtet:

Auf der Weinrebe: *Macrophoma flaccida* (Viala et Rav.) Cav., *Phytoptus Vitis* Land.

Auf Cerealien: *Tilletia Tritici* (Bjerk.) Wint., *Cecidomya des-*

structor Say, *Tylenchus Tritici* Need. auf Weizen, *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *Secalis* auf Roggen, *Siphonophora cerealis* auf Roggen, Gerste, Hafer.

Auf Obstbäumen: *Tricoseptoria Alpei* Cav., *Limacinia Citri* (Br. et Pass.) Sacc., *Phyllosticta Hesperidearum* (Catt.) Penz., *Gloeosporium Hesperidearum* Catt., *Penicillium glaucum* Link auf *Citrus Limonum*, *Sphaerotheca pannosa* Lév. und *Clasterosporium carpophilum* (Lév.) Aderh. auf *Prunus persica*, *Dematophora necatrix* R. Hart. auf Rosaceen, *Monilia fructigena* Pers. auf *Cydonia vulgaris*, *Puccinia Cerasi* (Bérang.) Cast., *Phyllosticta prunicola* Sacc. und *Cercospora cerasella* Sacc. auf *Prunus avium* („ciliegio“), *Bacillus Oleae* (Arcang.) Trev. auf *Olea europaea*, *Anthonomus Piri* Koll. auf *Pirus communis*, *Ceroplastes Rusci* Fabr. auf *Ficus carica*.

Auf Gemüsepflanzen: *Bremia Lactucae* Regel auf *Lactuca sativa*, *Uromyces Betae* (Pers.) Kuhn auf *Beta* („bietole“), *Cystopus Tragopogonis* (Pers.) Schroet. auf *Scorzonera hispanica*, *Rhizoctonia violacea* Tal. und *Heterodera radiculicola* Greeff auf *Asparagus officinalis*, *Phyllosticta Napi* Sacc. und *Alternaria Brassicae* (Berk.) Sacc. auf *Brassica Napus*? („cavoli“), *Phyllosticta Cucurbitacearum* Sacc. und *Alternaria tenuis* Nees auf *Cucurbita pepo*, *A. Brassicae forma nigrescens* auf *Cucurbita pepo* und *Cucumis melo*, *Macrosporium commune* Rabh. auf *Vicia faba* und *Phaseolus vulgaris*, *Bruchus rufimanus* Sch. auf *Vicia faba*.

Auf Futterpflanzen: *Uromyces striatus* Schröt. auf *Lotus corniculatus*, *Puccinia Anthoxanthi* Fuck. auf *Anthoxanthum odoratum* L., *P. bromina* auf *Bromus sterilis*, *P. Triseti* Eriks. auf *Trisetum flavescens*, *Darluca filum* (Riv.) Cost. auf *Puccinia bromina* und *P. Triseti*, *Phyllachora Trifolii* (Pers.) Fuck. und *Sclerotinia Trifoliorum* Eriks. auf *Trifolium*, *Sporonema phacidioides* Sacc. auf *Medicago sativa*.

Auf Zierpflanzen: *Puccinia Violae* (Schum.) DC. auf *Viola tricolor*, *Phyllosticta Magnoliae* Sacc. auf *Magnolia*, *Ascochyta vicina* var. *evonymella* Sacc. auf *Evonymus japonica*, *Septoria Tussilaginis* West. auf *Tussilago*, *Gloeosporium affine* Sacc. auf *Hoya carnosa*, *Heterosporium echinulatum* (Berk.) Cke. auf *Dianthus*, *Helminthosporium* auf *Nerium*.

Auf Industriepflanzen: *Capnodium salicinum* Mont. und *Septoria didyma* auf *Salix*, *Oidium quercinum* Thüm. von weiteren Lokalitäten: Chiavari, Val Sesia, Valle dell' Ossola, Rocca S. Casciano, Gravedona (am Comersee), Lucca, Savona usw. *Melanconis perniciosus* Briosi et Farneti auf *Castanea vesca*, *Exoascus Ostryae* Mass. auf *Ostrya carpinifolia*, *Oidium Ceratoniae* Comes, *Cercospora Ceratoniae* Patouill. und *Aspidiotus Nerii* Bouché var. *Ceratoniae* Sign. auf *Ceratonia siliqua*, *Chrysomyxa Rhododendri* (D. C.) De Bary auf *Abies pectinata*, *Cercospora microsora* Sacc. auf *Tilia europea*, *Scolecotrichum Fraxini* Pass. auf *Fraxinus*, *Phyllosticta populina* Sacc., *Leptosphaeria Salicinarum* (Pass.) Sacc. und *Macrosporium* auf der kanadischen Pappel, *Cynips caput-Medusae* Hartig auf *Quercus*.

Auf sonstigen Pflanzen: *Entyloma Ranunculi* (Bon.) Schroet. auf *Ranunculus Ficaria*, *Caeoma Mercurialis* (Mart.) Link auf *Mercurialis perennis*, *Oidium erysiphoides* Fr. auf *Lamium*, *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link auf *Arum*, *Lathyrus*, *Mercurialis*, *Uromyces scutellatus* (Schr.) Léveill. auf *Euphorbia*, *Phyllosticta genistae* Brum. auf *Genista tinctoria*, *Septoria* auf *Senecio*, *Bacillus Sorghi* auf *Sorghum* („saggina“), *Ramularia lactea* (Desm.) Sacc. auf *Viola odorata*.

Der allgemeine Teil der Arbeit besteht in einer Zusammenstellung der Krankheiten der Klee- (*Trifolium*-) und Wicken- (*Vicia*-) Arten.

W. Herter (Tegel).

Juel, O., Notizen über Parasitenpilze. (Svensk botan. Tidsskr. Bd. 4. 1910. p. 45—46.)

Ein kurzer Überblick über einige in Schweden gefundene parasitische Pilze. *Aecidium punctatum* Pers. und *Puccinia Pruni spinosae* Pers. wurden bei Linnés Hammarby als dem nördlichsten Standorte gefunden. Matouschek (Wien).

Höhnel, J. von, Mykologische Fragmente. C. XVIII. Über die Gattung *Hyalodema*. (Annal. mycol. T. 8. 1910. p. 590.)

An die Mitteilung von P. Magnus (Ber. D. Bot. Ges. 1910. p. 377) über einen neuen krebsartige Auswüchse verursachenden Pilz aus Transvaal (von ihm als *Hyalodema Evansii* bezeichnet) knüpft von Höhnel an und führt aus, daß die Gattung *Hyalodema* identisch sei mit *Coniodictyum* H. et Pat.; möglicherweise ist *H. Evansii* sogar identisch mit dem gleichfalls auf *Zizyphus* parasitierenden *Coniodictyum Chevalieri*, welches die Früchte der Wirtspflanze gallenartig deformiert. Neger (Tharandt).

Bainier, G., Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie. XXXI. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 26. 1910. p. 382—384, Pl. XX.)

Verf. berichtet über einen Mucedineenpilz, den er auf faulenden Blättern der Banane fand und künstlich auf verschiedenen Substraten kultivieren konnte. Dieser Pilz erinnert an *Botryosporium*, doch unterscheidet er sich von diesem dadurch, daß die sporentragenden Fäden unverzweigt sind und die Konidienträger nicht direkt auf diesen, sondern auf den angeschwollenen Enden von Zweigen zweiter Ordnung sitzen. Er gehört zu einer neuen Gattung, *Radaisiella*, und erhält den Namen *Radaisiella elegans* Bain. n. sp. Seine reifen Konidien sind spindelförmig und ungestielt, 3 μ breit und 6 μ lang. Lakon (Tharandt).

Palm, Björn, Nya bidrag till Stockholmstraktens svampflora. [Neue Beiträge zur Pilzflora der Stockholmer Gegend]. (Svensk Botan. Tidskrift. 1910. p. 1—8).

Etwa 140 Arten werden genannt, ausschließlich parasitische Arten; einige derselben sind an Wirtspflanzen vorgefunden, an denen sie früher nicht bekannt waren. *Melampsora* an *Linum usitatissimum* hat bedeutend größere Teleutosporen als die Hauptart, und Verf. hat auch mehrmals vergebens versucht, *Linum usitatissimum* mit Uredosporen von *Melampsora Lini* auf *Linum catharticum* zu infizieren, weshalb er die Form auf *Linum usitatissimum* als eine selbständige Art unter dem Namen *Melampsora liniperda* (Körn.) Palm betrachtet. *Entyloma Sparganii* Lagerh., das bisher nur von Südfrankreich unter dem Namen *Melanotaenium* Sparg. bekannt war, ist von G. Lagerheim bei Raståsjön wieder aufgefunden worden. J. Lind (Kopenhagen).

Lind, J., Systematic List of Fungi (Micromycetes) from North-East Greenland, collected by the „Danmark-Expedition“ 1906—1908. (Meddelelser om Grønland. Vol. 43. p. 149—162. m. 1 Taf. Kopenhagen 1910.)

An denjenigen Phanerogamen, die im nördlichen Ostgrönland gesammelt worden waren, wurden 65 Pilzarten verschiedener Gattungen gefunden. Es werden 4 neue Arten beschrieben und abgebildet:

Ascospora graminis auf *Poa glauca* und *abbreviata*, *Pyrenophora filicina* auf *Cystopteris fragilis*, *Coniothyrium Lesquerellae* auf *Lesquerella arctica* und *Hendersonia gigantea* auf *Carex pulla*.

Zu einem Teile der übrigen Arten werden Mitteilungen über ihr Sporenmaß, ihre Nomenklatur und Begrenzung anderen verwandten Arten gegenüber usw. gegeben. *Septoria semilunaris* Johans. ist = *Rhabdospora Drabae* (Fuck.) und *Septoria nebulosa* Rostrup ist in *Rh. groenlandica* umgetauft worden.

J. Lind (Kopenhagen).

Massee, G., *Fungi exotici*. XI. (Kew Royal botan. Gardens Bulletin. 1910. p. 249—253. W. 2 tables.)

Es werden nur folgende neue Arten lateinisch beschrieben:

Agaricaceen: *Marasmius sordidus* Massee. Trinidad, auf abgestorbenen Zweigen, verwandt mit *M. cubensis* B. et C. durch die enger herablaufenden Lamellen und kleine Sporen; *Lentinus egregius* Massee auf Holz zu Brisbane in Australien, von *L. velutinus* durch mehr von einander stehende Lamellen und kleinere Sporen; *Hypholoma Talbotiae* Massee aus Süd-Nigeria, durchwegs purpurn gefärbt, Hut und Stiel mit Schuppen bedeckt; *Lenzites adusta* Massee, verwandt mit *L. Beckleri* Berk., in Bengal auf Holz.

Polyporaceen: *Polyporus indicus* Massee, Baroda in Indien, Holz und Wurzeln befallend, nicht mit *P. Schweinitzii* verwandt; *Polyporus confusus* Massee, Louisiana, längere Sporen als *Pol. craterellus* besitzend.

Sphaeriaceae: *Nectria theobromicola* Bancroft, auf den Schoten von *Theobroma cacao*, welche von *Diplodia cacaoicola* befallen waren Westafrika; *Eutypa caulivora* Massee, Singapore, Parasit auf Holz von *Hevea brasiliensis* im botanischen Garten, wird abgebildet; *Sphaerulina Worsdellii* Massee auf abgestorbenen Blattspitzen von *Welwitschia mirabilis* im Damaralande; *Pilula* Massee n. g. mit *P. straminea* Mass. (Nyasaland, auf Pack-Baumwolle, Flecken von kleinen strohfarbenen rundlichen Perithezien bildend. Dem *Eurotium* ist die neue Gattung ähnlich, aber die Asci sind verlängert und die Sporen elliptisch und mit 1 Septum versehen, hyalin.)

Tuberaceae: *Elaphomyces sapidus* Massee, India, united provinces, verwandt mit *E. papillatus* Vit, doch größere grobwarzige Sporen besitzend, von den Eingeborenen gegessen.

Sphaeropsidaceae: *Phoma welwitschiae* Massee, auf Blattspitzen der *Welwitschia*, eine xerophytische Art wie der Gast.

Matouschek (Wien).

Sydow, H. und P., *Fungi africani novi*. (Botan. Jahrb. f. System. Bd. 45. 1910. p. 259—265.)

Die Verff. beschreiben folgende neue Pilze aus dem tropischen und extratropischen Afrika, sämtlich Parasiten:

Uromyces comptus Syd. an *Ipomoea bipinnatifartita* Engl., *Puccinia aliena* Syd. an *Alchemilla peltata* Hochst., *P. desertorum* Syd. an *Evolvulus alsinoides*, *P. haematites* Syd. an *Triaspis auriculata* Radlk., *P. Schimperiana* Syd. an *Lantana (citrifolia?)*, *P. amianthina* Syd. an einer *Bambusee*, *Hemileia Scholzii* (P. Henn.) Syd. an verschiedenen Arten von *Clerodendron*, *H. helvola* Syd. an einer *Rubiacee*, *Uredo Scheffleri* Syd. an *Capparis* oder *Maerua*, *Aecidium ugandense* Syd. an *Turraea*, *Ustilago kamerunensis* Syd. an *Pennisetum*, *U. Scheffleri* Syd. an *Pennisetum inclusum* Pilger, *Tilletia pulcherrima* Syd. an *Ammodendron subacaulis* Coss. et Dur., *Sorosporium tristachydis* Syd. an *Tristachya*, *Dimoratorium apertum* Syd. an *Meliola* auf *Rhynchospora*, *Seynesia elegantula* Syd. an *Xymalos*, *Asterina combreti* Syd. an *Combretum tavetense* Engl., *Corynelia carpophila* Syd. an *Rapanea melanophloea*, *Asterostomella africana* Syd. an *Tylachium africanum* Lour., *Septogloeum concentricum* Syd. an *Sansevieria guineensis*.

Besonders interessant sind hiervon *Hemileia Scholzii* und *H.*

helvola, da sie zu *Hemileiopsis Raciborski* überleiten. Die Verff. schlagen vor, die beiden Gattungen zu vereinigen. Im Einvernehmen mit *Raciborski* teilen sie die Gattung *Hemileia* dann in folgende 3 Sektionen ein:

I. Starke Säulen- resp. Blasenbildung mit Sterigmenschicht. Teleutosporen ohne ausgezogene Ecken (*H. Scholzii*).

II. Wie I, aber Teleutosporen mit ausgezogenen Ecken (*H. Strophanti*, *H. Wrightiae*).

III. Niedrige Säulenbildung ohne Sterigmenschicht (*H. helvola*, *H. Dioscoreae-aculeatae* [Synonym *Uredo D.-a.*]).

Zu welcher Sektion *H. Thaji* [Syn. *Uredo Th.*] und *H. Antidesmae* [Syn. *Uredo A.*], sowie der bekannte Kaffeeparasit *H. vastatrix* gehören, ist noch unbekannt.

Corynelia carpophila auf der Myrsinacee *Rapanea* stellt die vierte Art der merkwürdigen Gattung dar, deren übrige Arten sämtlich auf der Konifere *Podocarpus* leben. W. Herter (Tegel).

Keißler, K. von, Micromycetes. [In: „Botanische und zoologische Ergebnisse einer wissenschaftlichen Forschungsreise nach den Samoa-Inseln, dem Neuguinea-Archipel und den Salomonsinseln von März bis Dezember 1905“ von Karl Reehinger]. (Denkschrift d. mathem.-naturw. Kl. d. kais. Akad. d. Wissensch. Wien. Bd. 85.) 11 pp. des Separ. Mit Fig. Wien 1910.

37 Arten von Pilzen sind erwähnt.

Neue Arten:

Hainesia Palmarum Keissl. (auf einer Frucht von *Areca Reehingeriana* Becc., Salomoninseln); *Gloeosporium Vandopsidis* Keissl. (auf Blättern einer epiphytischen Orchidee, ebenda), *Zukalia Gynopogonis* Keissl. (auf den Blättern von *Gynopogon scandens* Forst., einer Apocynacee; auf der Samoainsel Upolu; viel größeres Gehäuse als *Z. juruana* Henn., keine Paraphysen, Sporen ohne Öltropfen); *Hyaloderma Gardeniae* Keissl. (ebenda auf Blättern von *Gardenia Lanutoo* Rein., parasitisch auf einer *Meliola*-Art, Färbung des Gehäuses violett, Schläuche klein, nur $45-50 \times 1 \mu$, Paraphysen vorhanden, Sporen nur $21 \times 1,7 \mu$, nicht septiert); *Hyaloderma Afzeliae* Keissl. (auf lebenden Blättern von *Afzelia bijuga* Gray, Salomonsinseln); *Torrubiella brunnea* Keissl. auf Schildläusen an Blättern von *Melicope Vaupeli* Laut, auf Upolu; von auf Insekten lebenden, schon bekannten Arten verschieden durch die rein braunen kegeligen Perithezien, das braune Stroma, die wahrscheinlich nicht zerfallenden Sporen, die nicht spiralig gewundenen Sporen. — Die zwei an erster Stelle genannten Arten sind fungi imperfecti, die letztgenannte Pilzart gehört zu den Hypocreaceen, die anderen Arten zu den Perisporiaceen. Die Diagnosen sind lateinisch verfaßt. Bezüglich der Synonymik: *Triphragmium Thwaitesii* B. et B. ist identisch mit *Tr. clavellum* Berk. — *Gloeosporium cinctum* B. et B., *Gl. affine* Sacc. und *Gl. Vanillaee* Cooke sind eine Art, die *Gl. cinctum* B. et B., weil schon 1874 publiziert, heißen muß. — *Meliola bicornis* Wint. ist synonym zu *M. bifida* Cooke. —

Neue Nährpflanzen:

Für *Macrophoma palmarum* Berl. et Vogl 1886 die Frucht von *Areca Reehingeriana* Becc., für *Pestalozzia funerea* Desm. Stämme von *Cereus nycitcalus* Link und *C. triangularis* Haw.; für *Meliola Andromedae* Pat. *Spiraeanthemum*.

Systematisches etc.:

Helminthascus Tranzsch. wird im Gegensatz zu *Saccardo* wegen der in das Stroma ganz versenkten Perithezien von *Torrubiella* getrennt und ist eher zu *Oomyces* zu ziehen. — Auf die vielen kritischen Bemerkungen und Ergänzungen der Diagnosen kann hier nur aufmerksam gemacht werden. — *Hysterium angustatum* Alb. et Schwerin wurde auf Zweigen von *Acacia koa* Gray gefunden. —

Meliola penicilliformis Gaill., bisher auf *Psychotria* aus dem Amazonasgebiete bekannt, wurde auf lebenden Blättern der *Psychotria geminodens* Rein. und *P. samoana* K. Sch. auf Upolu gesehen.

Matouschek (Wien).

Lindau, G., Über Wanderungen parasitischer Pilze. (Naturw. Wochenschr. N. F. Bd. IX. 1910. p. 625—629.)

Bei den in den letzten 50 Jahren bekannt gewordenen Wanderungen gefährlicher Pilzparasiten unserer Kulturgewächse lassen sich zwei Typen unterscheiden. Im ersten Falle, der der *Phytophthora infestans* (Kartoffel), *Plasmopara viticola* und des *Oidium Tuckeri* (Weinstock), erfolgt die Verbreitung schrittweise, in konzentrischen Kreisen von einem Infektionsherde aus; im zweiten Falle, z. B. bei *Oidium quercinum* (Eiche) und *Oidium evonymi japonicae* (*Evonymus japonica*) mehr explosionsartig, sprungweise über ungeheuer weite Länderstrecken. Bei *Sphaerotheca morsuvae* (Stachelbeere) müssen wir mit beiden Verbreitungsweisen rechnen.

Verf. führt zwei Beobachtungen über sprungweises, zusammenhangloses Auftreten der Oidien in der Gegend von Dessau an.

Mitten im Kiefernwalde fand er an einigen Eichenbüschen *Oidium quercinum*, obgleich nirgends in der Umgegend Jungeichen zu finden sind. An einer seit 23 Jahren gepflegten *Evonymus*-Pflanze trat plötzlich *Oidium evonymi japonicae* auf. In beiden Fällen kann die Infektion nur durch die Luft über weite Landstrecken hin erfolgt sein. Die wahllos durch die Luftströmungen verwehten Sporen gehen nun unfehlbar zugrunde, wenn sie für das Auskeimen nicht auch die günstigen Bedingungen, wie die genügende Feuchtigkeit finden. Gewisse Epidemien sind also abhängig von meteorologischen Faktoren. Da man sich heute auf Grund der täglichen Wetterkarten ein Bild von den herrschenden Windströmungen und Feuchtigkeitsverhältnissen machen kann, sollte man auch versuchen, das Fortschreiten der Krankheiten hiermit in Einklang zu bringen. Derartige Untersuchungen würden für die Prophylaxe großen Wert haben. Wenn wir wüßten, daß bei einer bestimmten Witterungslage das Auftreten oder die Ausbreitung einer bestimmten Krankheit zu erwarten wäre, so könnten wir uns für die Abwehr und Bekämpfung ganz anders einrichten als jetzt, wo wir erst nach dem Ausbruch der Epidemie zu Abwehrmaßregeln greifen können.

W. Herter (Tegel).

Johnston, John, R., Is *Bacillus coli* ever a plant parasite? (Phytopathology. Vol. 1. 1911. p. 97.)

Aus dem kranken Gewebe von Kokospalmen, die von der Knospenfäule (Budrod) befallen waren, wurde *Bacillus coli* isoliert. Infektionsversuche mit Reinkulturen ergaben das gleiche Krankheitsbild. Verf. stellte mit Stämmen verschiedener Herkunft Infektionsversuche an; vielfach zeigten sich nur leichte Bräunungen an der Impfstelle, in anderen Fällen zeigte sich eine typische Fäulnis. Die Versuche zeigen also, daß gewisse Stämme von *Bacillus coli* phytopathogen sind.

Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Heinricher, E. und Elsler, E., *Pachyma Cocos* Fr. Ein interessanter Pilzfund für Tirol. (Zeitschr. des Ferdinandeums Innsbruck. III. F. H. 54. 1910. p. 339—348. Mit 1 Taf.)

Ein merkwürdiges Gebilde, wohl 1 kg schwer, wurde vor 15 Jahren bei

einer Aufforstung nächst Innsbruck gefunden. Einer Kokosnuß war das Gebilde wohl ähnlich gewesen; nur die eine Hälfte hat sich als Briefbeschwerer in einer Kanzlei gefunden. Der Fundort war ein Föhrenwald. Es ist wohl sicher, daß ein Sklerotium vorliegt, das sich zu einem Polyporus oder einer Agaricinee entwickelt hätte. Versuche wären da sehr wünschenswert, da es bei *Pachyma Woermanni* (deutsche Kolonien Westafrikas) gelang, den Pilz, *Lentinus Woermanni*, zu züchten. Bei *Mytilitta lapidescens* erschien in der Kultur *Omphalia lapidescens*. — Elsler studierte die Histologie und gibt die Verbreitung des Sklerotiums in Europa an. Die Funde sind aber kleiner als der Innsbrucker.

Matouschek (Wien).

Mayor, Eug., *Recherches expérimentales sur quelques Urédinées hétéroiques*. (Annal. Mycol. Vol. 9. 1911. p. 340—362.)

Verf. teilt die Ergebnisse seiner Kulturversuche mit heteroecischen Uredineen aus dem Kanton Neuchâtel mit. Darnach gehört eine auf *Carex digitata* häufig auftretende *Puccinia* zu einem *Aecidium* auf *Ribes alpinum*. Derselbe Pilz verursachte auch eine Infektion auf *Ribes grossularia*, wenn auch auf dieser Pflanze in weit geringerem Maße. Die erstgenannte *Ribes*-Art wurde auch infiziert mit Teleutosporen, die von *Carex glauca* stammten, während die Aussaat dieser Teleutosporen auf *R. grossularia* erfolglos blieb.

Auf *Koeleria cristata* und *K. valesiaca* wurde mit *Aecidien* von *Sedum reflexum* (= *Endophyllum Sedi*) die *Puccinia longissima* erzielt.

Mit Teleutosporen von *Carex muricata* wurde eine Infektion auf *Crepis biennis* hervorgerufen, während *Taraxacum officinale* pilzfrei blieb. Anscheinend mit demselben Sporenmaterial wurden auch *Aecidien* auf *Lactuca muralis* erzielt. Dieser Pilz dürfte zu *Puccinia Opizii* zu stellen sein.

Am bemerkenswertesten ist der Nachweis, daß auf *Actaea spicata* 2 verschiedene, morphologisch allerdings kaum zu unterscheidende *Aecidien* vorkommen, von denen das eine nach den Kulturversuchen von Ed. Fischer zu einer *Puccinia* auf *Triticum caninum*, das andere nach Mayors Feststellungen zu einer *Puccinia* auf *Elymus europaeus* gehört. Die letztere Form wird also als *Puccinia Actaeae-Elymi* beschrieben.

H. Sydow (Schoeneberg).

Namyslowski, Bolesl., *Przyczynek do znajomości rdzy*. [= Beitrag zur Kenntnis der Rostpilze]. (Kosmos, Lemberg. Bd. 36. 1911. p. 193—299). [Poln. u. deutsch.].

Als neu werden vom Verf. aufgestellt:

1. *Aecidium Aposoeridis* n. sp. ad interium, an zwei Orten von Galizien auf *Aposoeris foetida* gesehen. Verschieden von *Aec. compositarum* Mart.

2. *Aecidium* sp. (vielleicht zu *Aec. Cichorii* gehörend, doch müßten dies erst die Kulturen entscheiden, ob dieses *Aecidium* wirklich zu *Puccinia Cichorii* gehört.

3. *Uromyces carpathicus*, auf der Blattunterseite von *Geranium phaeum*, an diversen Orten des Kronlandes. Das Epispor ist warzig, die Papillen sehr klein, die Teleutosporen viel kleiner als bei *U. Geranii* (DC.) und *U. Kaba-tianus* Bub.

Matouschek (Wien.)

Kern, F. D., Two new species of Uromyces. (Rhodora. Vol. 12. 1910. p. 98—105.)

Uromyces-Arten treten auf Carex in Nordamerika seltener auf als Puccinia-Arten. Verf. entwirft eine Bestimmungstabelle der Uromyces-Arten auf Carex wie folgt:

- A. Keimporen äquatorial.
 - a) Keimporen in 4-Zahl. Uredosporen mit zimtbrauner Wand. *Uromyces valens* Kern. n. sp.
 - b) Keimporen 2, selten 3 an der Zahl, Uredosporen $15-19 \times 19-26 \mu$.
 - α) Deren Wand lichtzimtbraun gefärbt, zuletzt warzig-stachelig. *U. Solidaginis-caricis* Arth.
 - β) Deren Wand goldbraun, grob und zerstreut stachelig. *U. caricina* E. et E.
 - c) Keimporen 2—3, Uredosporen, klein, $10-15 \times 15-19 \mu$, Wand goldbraun.
- U. minutus Diet.
 - B. Keimporen extra-äquatorial.
 - a) Keimporen 2 an der Zahl, superäquatorial, Wand der Uredosporen zimtbraun.
- U. perigynius Hals.
 - b) Keimporen 1 an der Zahl, unten nächst dem Hilus; Wand der Uredospore dunkelzimtbraun. *U. uniporulus* Kern. n. sp.

Bezüglich der neuen Arten bemerkt Verf.:

Uromyces uniporulus kommt auf *Carex debilis* vor und wurde von John L. Sheldon in Connecticut gefunden, *U. valens* auf *Carex utriculata* zu Mattsville (Indiana) wurde von G. West Wilson gefunden. — Bezüglich der Verbreitung der anderen Arten: *U. Solidaginis-caricis* ist bekannt aus Nova Scotia, Maine (Indiana), Wisconsin und Colorado; Teleutosporen sind bisher auf *Carex deflexa*, *flava*, *lanuginosa*, *pubescens* und *gracillima* gefunden worden. Das Aecidium ist bisher nur auf *Solidago rugosa* (Maine) und *S. sp. ind.* (Indiana) beobachtet. *U. caricina*, bisher nur in Delaware und New-York, sah man nur auf *Carex scoparia*. *U. minutus* ist eine südliche Art, auf *Carex triceps*. *U. perigynius* ist eine kleine seltene Art, in Iowa und Wisconsin. Nur bei *U. Solidaginis-caricis* wurde durch Kultur der Zusammenhang mit dem Aecidium-Stadium nachgewiesen.

Matouschek (Wien).

Fraser, W. P., Cultures of some heteroecious rusts. (Mycologia. Vol. 3. 1911. p. 67.)

Mit Teleutosporen von *Melampsoropsis cassandrae*, die auf *Chamaedaphne calyculata* gefunden waren, wurde *Picea rubra* infiziert; es erschienen nach zwei Tagen Pykniden, denen bald Aecidien folgten. Diese wurden als *Peridermium consimile* bestimmt. Die Versuche bilden eine Ergänzung zu den von Clinton angestellten, bei welchen nach Infektion von *Chamaedaphne calyculata* mit *Peridermium consimile* Uredosporen von *Melampsoropsis cassandrae* auftraten.

Picea rubra wurde mit Teleutosporen von *Melampsoropsis abietina*, die auf *Ledum groenlandicum* aufgetreten waren, infiziert; es erschienen die Aecidien von *Peridermium abietinum*.

Infektionen von *Picea canadensis* mit Teleutosporen von *Melampsoropsis ledicola* ergaben als zugehörige Aecidien *Peridermium decolorans*.

Beobachtungen des Verf. sprechen für die Richtigkeit der Vermutungen Rostrups, daß *Peridermium conorum*-Piceae die Aecidienform von *Melampsoropsis pyrolae* ist. — Nach anderen Beobachtungen des Verf. scheint *Pucciniastrum arcticum* (auf *Rubus idaeus* var. *aculeatissimus*) zu *Peridermium balsameum* zu gehören.

Mit Teleutosporen von *Uromyces Peckionus*, die auf *Distichlis spicata* häufig auftraten, wurden *Atriplex patula* var. *hastata* und *Chenopodium album* infiziert; auf beiden Pflanzen trat Aecidienbildung ein. Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Dietel, P., Einige Bemerkungen zur geographischen Verbreitung der Arten aus den Gattungen *Uromyces* und *Puccinia*. (Annal. mycol. Vol. 9. 1911. p. 160—165.)

Eine pflanzengeographische Statistik der beiden wichtigsten Uredineengattungen, deren Ergebnis der Verf. selbst in folgende Leitsätze zusammenfaßt:

1) Der Prozentsatz der endemischen Arten von *Uromyces* und *Puccinia* ist in einem Erdteil um so höher, je vollständiger er isoliert ist.

2) Die Gattung *Uromyces* hat sich in wärmeren Ländern zu einem höheren Prozentsatz der gesamten Artenzahl entwickelt als in kälteren.

3) Für die alte wie für die neue Welt beträgt die Zahl der *Uromyces*-arten etwa den dritten Teil von der Anzahl der Puccinien.

4) In Eurasien und Amerika ist der Prozentsatz der endemischen *Uromyces*-Arten etwas höher als derjenige der endemischen Puccinien, weil hier der Austausch der Arten hauptsächlich in höheren Breiten erfolgte, die eine reichere Entwicklung der Gattung *Puccinia* begünstigten.

Neger (Tharandt).

Sharp, Lester W., Nuclear phenomena in *Puccinia podophylli*. Prelimin. note. (Botan. Gazette. Vol. 51. 1911. p. 463—464.)

Im Myzel der *Puccinia podophylli* wurden vor der Bildung der Aecidien und Spermogonien Doppelkerne beobachtet, die sich paarweise teilen. Es ist jedoch nicht schwierig, daneben einkernige Zellen zu finden, und sehr häufig finden sich mehr als zwei, besonders drei oder vier Kerne in einer Zelle. So enthalten die Basalzellen der Aecidiosporen zwei, drei oder vier Kerne. Der Umstand, daß gerade in den Basalzellen sehr häufig vier Kerne angetroffen werden, deutet darauf hin, daß sie nicht als einfache Myzelzellen zu betrachten sind, welche meist zwei Kerne enthalten. Die reifen Aecidiosporen besitzen ebenfalls zwei, drei oder vier Kerne, je nachdem die Basalzelle zwei, drei oder vier derselben enthielt.

In den Basalzellen der Spermatien befinden sich ein, zwei oder drei Kerne, die sich meist mitotisch vermehren. Die außerordentlich variablen Spermatien enthalten einen oder zwei Kerne. W. Herter (Tegel.)

Köck, Gustav, Beobachtungen über den Befall verschiedener Kirschen- und Weichselsorten durch den Moniliapilz (*Sclerotinia cinerea* [Bon] Schröt.) (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswes. in Österr. Jg. 13. 1910. p. 889.)

Verf. hatte Gelegenheit bei 27 Kirschen- und Weichselsorten Beobachtungen über ihr verschiedenes Verhalten gegen den *Moniliapilz* zu machen. Am weitaus stärksten wurde die große lange Lotkirsche befallen, und zwar sowohl die Pyramiden als auch die Hochstämme, während „Beste Werdersche“, die dicht bei den Lotkirschen stand, daß die Zweige fast in einandergriffen, vollständig verschont blieb. 10 Sorten waren auch befallen, doch bedeutend geringer als die Lotkirsche. Der Schluß, daß es sich hier um eine Sorteneigentümlichkeit handelt, ist nicht von vornherein gestattet. Die Infektion durch

den Schädling findet durch die Blüte statt und ist ihr Zustandekommen von den äußeren Bedingungen (vor allem durch die Witterung), die zur Zeit der Blüte der Nährpflanze herrschen, abhängig. Da nun die Blütezeit der verschiedenen Sorten nicht die gleiche ist, so ist es sehr leicht möglich, daß zur Blütezeit der Lotkirsche gerade diese äußeren Bedingungen für das Eintreten der Infektion besonders günstige waren, während dies zur Zeit der Blüte der Sorte „Beste Werdersche“ nicht der Fall war. Daraus würde sich dann ohne Rücksicht auf die Sortenverschiedenheit die Tatsache erklären, daß die eine Sorte stark von dem Schädling befallen und die danebenstehende andere Sorte davon frei ist. Es handelt sich also in diesem Falle bei der Feststellung, inwieweit die Sorteneigentümlichkeit bei dem verschiedenen Befall durch den Schädling von Einfluß ist, darum, genau die Blütezeit der einzelnen Sorten sowie die äußeren während der Blütezeit herrschenden Verhältnisse zu beachten. Im vorliegenden Falle blühten die 27 Sorten fast gleichzeitig, und es herrschten auch während dieser kurzen Zeit die gleichen Witterungsverhältnisse, so daß also der verschieden starke Befall wohl als Sorteneigentümlichkeit gedeutet werden kann. Diese Konstatierung hat aber keine allgemeine Geltung, da solche Sorteneigentümlichkeiten immer nur für eine bestimmte Lokalität bestehen und nicht ohne weiteres auf eine andere Gegend übertragen werden können. **Stift (Wien).**

Lindau, G., Die Kenntnis der durch Fusariumarten hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten. (Naturwissensch. Wochenschr. N. F. Bd. X. 1911. p. 26—27.)

Die bekanntesten Fusarium-Krankheiten der Kulturpflanzen sind die im Jahre 1903 durch van Hall zuerst beobachtete St. Johanniskrankheit der Erbsen und die in der Neuzeit immer bedrohlicheren Charakter annehmende Epidemie der Kartoffeln.

Der St. Johanniskrankheit ähnliche Welkekrankheiten wurden von Appel und Schikorra auch an Lupinus und Vicia faba beobachtet. Neuerdings sind von Appel und Wollenweber die auf Kartoffel vorkommenden Fusarien einer eingehenden Untersuchung unterzogen worden. 13 Arten der Gattung wurden kritisch definiert. Nur morphologische Charaktere kommen dabei in Betracht, und zwar in erster Linie die Gestalt der Konidien. **W. Herter (Tegel).**

Herter, W., Autobasidiomycetes. (Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Bd. 6. 1. 1910. p. 1—192, m. 6 Taf.)

Mit dem vorliegenden ersten Hefte des 6. Bandes der Kryptogamenflora beginnen die höheren Basidiomyceten zu erscheinen. Auf einen einleitenden Teil, in welchem kurz auf die Geschichte der Pilzsystematik eingegangen wird, folgt ein morphologischer Abschnitt, der die Merkmale, Keimung, Hyphen, Mycel, Fruchtkörper, Hymenium, Basidien, Cystiden behandelt. Im Kapitel über Vermehrung finden sodann die verschiedenen bei den Autobasidiomyceten vorkommenden Formen ungeschlechtlicher Fortpflanzung Berücksichtigung (Basidiosporen, Konidien, Chlamydosporen, Oidienketten, Gemmen, Stäbchen, Hefesprossung).

An diesen Abschnitt schließen sich einige biologische Kapitel und zwar wird zunächst eine Zusammenstellung unserer Kenntnisse über Standortverhältnisse versucht. Verf. ordnet die in dem Gesamtbande zu behandelnden Pilze nach ihrem Vorkommen in folgende Gruppen ein:

1) An Bäumen, Holzwerk usw. (als Baumpilze), A. an Laubhölzern, B. an Nadelhölzern vorkommende Arten.

2) Auf dem Erdboden, an abgefallenen Blättern und Nadeln vorkommende Arten (Bodenpilze). I. Waldpilze: C. In Laubwäldern, D. in Nadelwäldern, II. Heidepilze: E. Auf dünnen Heiden, Feldern, Wiesen, an Wegen und Grabenrändern, an feuchten Stellen zwischen Moos und Gras, F. auf Mist und Dung, G. an frischen Brandstellen wachsende Arten.

Im weiteren werden zusammengestellt: H. Die für menschliche Behausungen besondere Vorliebe zeigenden Arten, I. adventive Arten, K. Parasiten, L. Hexenringe bildende Arten, M. zu abnormen Bildungen neigende Arten. Im Kapitel über Nutzen und Schaden der Pilze werden sodann Übersichten über die beliebtesten und die weniger bekannten Speisepilze, über die verdächtigen und die als Giftpilze angesehenen und schließlich über die gewöhnlich als Schädlinge der Bäume betrachteten Arten gegeben.

Mit einigen Ratschlägen zum Sammeln und Konservieren der Hutpilze schließt der allgemeine Teil.

Der spezielle Teil behandelt die Ordnungen *Dacryomycetinae*, *Exobasidiinae* und von den Hymenomyceten die Reihen *Tulasnellales*, *Thelephorales*, *Clavariales* und *Hydnales* (letztere noch nicht vollständig). Berücksichtigung haben hier besonders die Forschungen von Höhnels und Litschauers gefunden. Die ominösen Hypochnaceen sind ganz abgetan worden.

Neue Arten, Formen oder Kombinationen sind:

Cytidia cruenta (Pers.) Hert., *C. sarcoides* (Fries) Hert., *Corticium microsporum* (Bres.) Hert., *C. Henningsii* Hert., *C. chalybeum* (Pers.) Hert., *C. Lindavianum* Hert., *C. Weisseanum* (Henn.) Hert., *Kneiffia byssoidea* (Pers.) Hert., *K. aegerita* (Hoffm.) Hert., *K. lycii* (Pers.) Hert., *K. Molleriana* (Sacc.) Hert., *K. nuda* (Fries) Hert., *Cyphella villosa* Karst. var. *cycadearum* Henn., *Solenia palmicola* (Henn.) Hert., *Typhula virescens* (Niessl) Hert., *T. filata* (Pers.) Hert., *Clavariella gracilis* (Pers.) Hert., *C. crocea* (Pers.) Hert., *C. corrugata* (Karst.) Hert., *Radulum molariforme* (Pers.) Hert., *Hydnum Henningsianum* Hert., *Caldesiella ferruginea* (Pers.) Hert., *Calodon hybridus* (Bull.) Hert.

Auf 6 Tafeln sind Sporenformen und Fruchtkörper von typischen Arten dargestellt. Autoreferat.

Torrend, C., *Trametes ochroleuca* (Berk.) Bres., v. *lusitanica* Torrend. (Bull. Soc. Portugaise d. Scienc. nat. T. 4. 1910. p. 35—37.)

Verf. faßt mit Bresadola unter dem Namen *Trametes ochroleuca* (Berk.) Bres. in litt. folgende bisher als gute Arten betrachtete Polyporeen zusammen: *Fomes scutellatus* Schw., *Trametes ohienensis* (Berk.) Bres. in litt., *Polyporus compressus* Berk., *P. Leveillei* Pat. und beschreibt eine in Portugal auf *Robinia pseudoacacia* vorkommende neue Varietät desselben. Ref. hält es für wenig einleuchtend, daß der Pilz in allen 5 Erdteilen typisch und nur in Portugal variierend auftreten soll. Besser wäre es, die außereuropäischen Formen als Arten zu belassen und die portugiesische Form als *Trametes lusitanica* (Torrend) nov. spec. gänzlich abzutrennen.

W. Herter (Tegel).

Massart, J., Sur les ronds de sorcière de *Marasmius Oreades* Fries. (Annal. d. Jardin Bot. de Buitenzorg. Suppl. 3. 1910. p. 583—593.)

Die Hexenringe des genannten Pilzes konnte Verf. gründlich auf den Dünen der belgischen Küste und auf Weidetriften bei Pas de Calais studieren. Er glaubt an die Absonderung eines giftigen Stoffes in den Erdboden hinein, der die Pilze zwingt, immer weiter ausgreifende Ringe zu bilden. Dieser Stoff soll erst nach mehreren Jahren ganz verschwinden. Man hat also nicht mit Erschöpfung des Nährbodens im Innern der Kreise zu tun.

Matouschek (Wien).

Molliard, De l'action du *Marasmius Oreades* Fr. sur la végétation. (Bullet. Soc. bot. de France. T. 57. 1910. p. 62—69. Avec 1 pl.)

Verf. studierte die Hexenringe, welche auf magerem Boden in den nördlichen Teilen von Frankreich von dem oben genannten Pilze gebildet werden. Sie bestehen aus 3 konzentrischen Ringen. Am inneren und äußeren Kreise gedeiht das Gras sehr kräftig, während es am mittleren Kreise recht schlecht entwickelt ist. Das Mycelium tritt in der mittleren Zone bis nahe an die Oberfläche; unterhalb des inneren Kreises verschwindet es fast plötzlich und unterhalb des äußeren Kreises ist es kaum mehr zu bemerken. Er fand dort, wo das Mycel vorkommt, sehr wenig Wasser und viel Ammoniak im Boden. Dies ist ausreichend, um die schlechte Entwicklung des Grases zu erklären, auch wenn man von der schädigenden Wirkung des Eindringens der Pilzfäden in die Wurzeln der Gräser absieht. Matouschek (Wien).

Duggar, B. M., Physiological plant pathology. (Phytopathology. Vol. 1. 1911. p. 71.)

Verf. behandelt die Bedeutung der Physiologie für die Phytopathologie; er erkennt den Wert der zahlreichen bakteriologischen und mykologischen Forschungen an, will aber die Untersuchung der erkrankten Wirtspflanze mehr in den Vordergrund gerückt sehen. Die Reaktion der Pflanzenzelle auf den vom Parasit ausgeübten Reiz ist viel zu wenig untersucht; vielfach wird nicht genügend beachtet, daß äußere Bedingungen nicht nur den Parasiten, sondern auch die Wirtspflanze beeinflussen. Die Ursachen der Widerstandsfähigkeit einzelner Arten gegen Krankheiten sind noch nicht aufgeklärt. Alle solche Fragen können nur gelöst werden, wenn Physiologen, Phytopathologen und Vertreter der Biochemie Hand in Hand arbeiten.

Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Stewart, F. C., Notes on New York plant diseases. I. (New York Agric. Exper. Stat. Bull. No. 328. 1910.)

Verf. teilt eine Reihe kleiner Beobachtungen mit, welche sich auf die im Staate New York auftretenden Pflanzenkrankheiten beziehen.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Griffon, E. et Maublanc, A., Notes de pathologie végétale. (Bull. Soc. Myc. France. T. 27. 1911. p. 47—67.)

In vorliegendem Berichte werden einige Krankheiten, welche im Laufe des Jahres 1910 in Frankreich aufgetreten sind, behandelt.

Auf *Helleborus niger* trat *Coniothyrium Hellebori* Cooke et Massee auf. Verff. beschreiben näher das Mycel, Pykniden und Sporen dieses Pilzes, welcher sich auch künstlich leicht kultivieren läßt.

Auf *Solonum Melongena* wurde die durch *Ascochyta*

hortorum (Speg.) Smith verursachte Krankheit beobachtet. Im wesentlichen stimmt die Krankheit mit den früheren Angaben überein, nur im Gegensatz zu letzteren steht die Tatsache, daß im Gewebe des Stammes der Pilz nicht interzellulär, sondern intrazellulär wächst.

Aus den Krankheiten des Getreides haben im Berichtsjahre besonders der Rost und die Fußkrankheit großen Schaden angerichtet. Außerdem ist auf Hafer die Schwärze, verursacht durch *Cladosporium herbarum*, und auf Gerste *Helminthosporium teres* Sacc. schädigend aufzutreten.

Ferner werden die Herzfäule der Zuckerrübe, einige Sklerotienkrankheiten von verschiedenen Pflanzen, die *Phytophthora* der Kartoffel und der Tomate, der falsche Meltau des Weinstockes, der Eichenmeltau, der Stachelbeermeltau und die durch *Chrysophlyctis endobiotica* Schilb. verursachte Schorfkrankheit der Kartoffel besprochen. Letztere Krankheit ist zum ersten Male in Frankreich beobachtet und wird näher beschrieben.

Lakon (Tharandt.)

Ducomet, V., *Recherches sur quelques maladies de plantes cultivées*. (Annales de l'Ecole nat. d'Agricult. de Rennes. T. 4. 1910. 29 pp., 15 Fig.)

Verf. berichtet über einige interessante parasitische Pilze an Kulturpflanzen. An Mandelbäumen wurde ein neues *Fusicladium* beobachtet (*F. Amygdali* n. sp.), das mit *F. Cerasi* Rabh. und *F. Pruni* Duc. nahe verwandt ist. Besondere Beachtung verdient das Auffinden einer *Peronospora* an Buchweizen, einer Pflanze, die sonst nur sehr selten von Parasiten heimgesucht wird. Ob hier eine neue Art vorliegt oder ob die Form mit einer der auf Polygonaceen bekannten *Peronospora* zu identifizieren ist, läßt sich schwer sagen. Kulturversuche zum Zwecke der Übertragung des Pilzes auf *Polygonum convolvulus*, *P. aviculare* und mehreren *Rumex*-Arten blieben erfolglos. Ferner wurde an Buchweizenblättern ein *Heterosporium* beobachtet, das anscheinend aber nur eine saprophytische Rolle spielt; es steht dem *H. variabile* nahe. An Kartoffelblättern wurde in Frankreich in der Dordogne zum ersten Male das Auftreten von *Cercospora concors* (Casp.) Sacc. konstatiert.

Weiter berichtet Verf. über das oft gleichzeitige Auftreten verschiedener parasitischer Pilze an derselben Pflanze und bespricht die Fälle *Cystopus candidus* u. *Peronospora parasitica*, *Exoascus deformans* u. *Clasterosporium carpophilum*, *Puccinia Rubigovera* u. *Tilletia Tritici* genauer. Den Schluß bilden Beobachtungen über die Beziehungen des *Clasterosporium carpophilum* zum Gummifluß der Obstbäume.

H. Sydow (Schoeneberg.)

Mortensen, M. L. u. Rostrup, Sofie, *Monatliche Übersichten über die Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen*. April 1911. (Maanedlige Oversigter over Sygdomme hos Landbrugets Kulturplanter fra de samvirkende danske Landboforeningers plante-patologiske Forsøgsvirksomhed 36. April 1911.)

Die Wintersaaten stehen infolge des milden und fast schneelosen Winters vorzüglich; stellenweise war der Roggen infolge *Fusarium*befalls so schlecht aufgelaufen, daß im Frühjahr eine Neubestellung notwendig war. In einzelnen Bezirken wird über stärkeres Auftreten von *Typhula graminum*

auf Wintergerste geklagt. — Fast allerorten trat *Sclerotinia trifoliorum* in größerem Umfange auf, in verschiedenen Distrikten wurden 30 %, in anderen sogar 50 % des Klees vernichtet. Auf die übrigen angeführten Schädlinge soll nicht weiter eingegangen werden, da erheblichere Schädigungen nicht zu verzeichnen waren. Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen im Jahre 1909. Zusammengestellt in der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. (Ber. üb. Landwirtsch. herausg. im Reichsamte d. Innern. Heft 25. 1911).

Der vorliegende Bericht schließt sich in den wesentlichen Punkten dem Bericht über das Vorjahr an; um eine leichtere Orientierung zu ermöglichen, ist ein Register für diesen und die vier vorher gehenden Berichte beigelegt. — Leider konnte sich der Bericht nicht auf das ganze deutsche Reich erstrecken; von der Hauptsammelstelle in Oldenburg war nämlich überhaupt kein Material geliefert worden und die Hauptsammelstelle Bromberg lieferte ihren Bericht so spät, daß nur die Mitteilungen über Getreide und Hackfrüchte noch teilweise verwendet werden konnten. In Zukunft soll in dem Bericht nur das bis zum 31. Dezember des folgenden Jahres eingegangene Material verarbeitet werden, weil dadurch ein pünktlicheres Erscheinen des Berichtes möglich ist.

Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Mortensen, M. L., Rostrup, Sofie und Kølpin Ravn, F., Übersicht über die Krankheiten der Kulturgewächse im Jahre 1910. [Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1910. 13. Beretning fra de samvirkende danske Landboforeningers plantepatologiske Forsøgsvirksomhed.] (Tidsskr. for Landbr. Planteavl. Bd. 18. 1911. p. 317.)

Der vorliegende Bericht enthält Mitteilungen über die Witterungsverhältnisse in Dänemark im Jahre 1910 und über die wichtigsten Krankheiten der Kulturpflanzen. Von Brandpilzen auf Getreide ist nur *Urocystis occulta* in stärkerem Maße aufgetreten, die übrigen Brandpilze waren kaum von wirtschaftlicher Bedeutung, ebenso auch die Rostpilze. Fusarien spielen nach Ansicht der Verff. eine bedeutende Rolle für den Getreidebau; teils treten sie als Schneeschimmel auf, teils rufen sie Fußkrankheiten hervor, beim Hafer sollen sie eine Weißährigkeit verursachen können. *Helminthosporium gramineum* ist in stärkerem Umfange aufgetreten; Versuche zeigten, daß dieser Pilz durch Saatgutbehandlung mit Formalin bekämpft werden kann. *Helminthosporium teres* trat nur selten auf; gegen diesen Pilz bewährte sich die Heißwasserbehandlung. Von tierischen Getreideschädlingen, die wenigstens in einigen Gegenden Schaden anrichteten, sind *Agriotes lineatus*, *Tipula paludosa*, *Hylemyia coarctata*, *Oscinis frit* und *Chlorops taeniopus* zu nennen.

Auf Runkel- und Zuckerrüben wurden u. a. *Sclerotinia fuckeliana*, *Rhizoctonia violacea*, *Anthomyia conformis* und *Aphis papaveris* beobachtet. Auch Wurzelbrand trat auf; durch günstige Witterung wurde aber diese Krankheit vielfach überwunden.

Kohlrüben wurden von *Plasmodiophora brassicae* heimgesucht; außerdem zeigte sich eine Bakteriose in recht erheblichem Umfange.

Von tierischen Schädlingen seien hier nur *Anthomyia brassicae* und *Haltica nemorum* genannt.

Im Berichtsjahre traten an Kartoffeln Bakteriosen (Fäulnis in Mieten, Ringkrankheit und Schwarzbeinigkeit) nur selten auf; dagegen wurde Blattrollkrankheit häufig beobachtet. Auf die Beobachtungen über Parasiten von Klee, Luzerne und Futterpflanzen soll nicht eingegangen werden, da ernstere Schädigungen nicht auftraten.

Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Remy u. Lüstner, Bericht über das Auftreten von Feinden und Krankheiten der Kulturpflanzen in der Rheinprovinz im Jahre 1910. (Veröffentl. d. Landwirtsch. Kammer f. d. Rheinprov. 1911. Nr. 3).

Der vorliegende Bericht behandelt in seinem ersten, von Remy und Boerger bearbeiteten Teil, die Krankheiten der Feldfrüchte. In seinem zweiten von Lüstner bearbeiteten Teil die Krankheiten der Obstbäume und des Weinstockes. Der erste Teil wird mit einem Abschnitt über die Witterung des Jahres 1910 eingeleitet, dann werden die nichtparasitären Entwicklungsstörungen der Kulturpflanzen und die durch pflanzliche und tierische Feinde verursachten Erkrankungen behandelt. Als besonders bemerkenswert wird das Auftreten von *Enchytraeus labifer* an Weizen, von *Leptosphaeria herpotrichoides* an Hafer und von Hexenringen in Beständen von *Agrostis stolonifera* hervorgehoben.

Im zweiten Teil werden an erster Stelle die Versuche zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms besprochen. Von den zahlreichen geprüften Mitteln zur Bekämpfung des Heuwurms in den Gescheinen hatten nur „Laurina“ und „Cucasa-Schwefelpulver“ einigen Erfolg; das auch gegen Blutläuse mit viel Reklame angepriesene „Antisual“ rief an den Reben so starke Verbrennungerscheinungen hervor, daß vor Anwendung dieses Mittels in Weinbergen dringend gewarnt wird. Von den übrigen im Berichtsjahre beobachteten Reben-schädlingen sei nur *Botrytis cinerea* erwähnt, die häufig die holzigen Teile der Rebe befiel und zugrunde richtete; in den gegen Heuwürmer mit Schmierseife behandelten Weinbergen trat der Pilz selten auf.

Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Schechner, Kurt, Krankheiten an Nutz- und Ziergewächsen des Gartens im Jahre 1910. (Österreich. Gartenztg. Jg. 5. 1910. p. 416—422.)

1) *Phytophthora infestans* auf dem Paradiesapfel (*Solanum Lycopersicum*). Der Pilz scheint dem Eindringen anderer Pilze die Bahn zu ebnen; denn es trat stets *Cladosporium fulvum* mit auf, das insbesondere auf den Stengeln große zusammenhängende Belege bildet. Die Bordeauxbrühe tötet die Pilzsporen und verhindert auch die Auskeimung dieser und neu aufliegender Konidien. Das Bild zeigt ein durch den Pilz total vernichtetes Feld.

2) *Septoria Apii*, die Blattfleckenkrankheit des Selleries. Die Bekämpfung umfaßt drei Maßregeln: Mycel und Sporen töte man durch Spritzen mit Bordeauxbrühe, nach der Ernte totale Vernichtung aller Blätter, da überwinterte Pykniden noch lebensfähig sind, Beizung der Samen vor der Aussaat im Mistbeete, da Pykniden auch auf den Früchten auftreten und die auf den Samen sitzenden Keime ein Wiederauftreten der Krankheit ermöglichen. Weitere Versuche müssen ein abschließendes Urteil erst begründen.

Gleichzeitig tritt eine Fäulnis der Knollen auf, die wohl ganz unabhängig vom genannten Pilze ist. Das Bild zeigt ein abgestorbenes Sellerieblatt.

3) *Aphelenchus olesistus*, ein Schädling von *Pteris umbrosa*. Die Nematode erzeugt an den Wurzeln und Blättern keine Anschwellungen; sie dringt aus der Erde in die Wurzel und von da in die Blätter oder direkt in diese durch die Spaltöffnung ein. Erkrankte Exemplare verbrenne man, auf den Komposthaufen werfe man sie ja nicht. Schwefelkohlenstoff in Löcher der Erde gegossen, vernichten die Rundwürmer gründlich, ohne den Farn zu schädigen. Matouschek (Wien).

Cook, Melville Thurston and Taubenhaus, J. J., The relative of parasitic fungi to the contents of the cells of the host plants (I. The toxicity of tannin). (Delaw. Coll. Agric. Exper. Stat. Bull. 91. 1911.)

Die Verff. untersuchten die Wirkung von Tannin auf eine große Anzahl von Pilzen. Es zeigte sich, daß die untersuchten Pilzsporen verhältnismäßig wenig geschädigt wurden, wenn das Tannin einer Nährlösung zugesetzt war; wurden dagegen die Sporen in destilliertem Wasser der Wirkung des Tannins ausgesetzt, so zeigten sich stärkere Schädigungen. Geringe Mengen von Tannin in destilliertem Wasser üben einen das Wachstum und die Fruktifikation fördernden Reiz aus. In Lösungen von 0,1—0,6% keimten die Sporen zwar aus, das Mycel blieb aber kurz, die Hyphen waren dick und abnorm reich septiert. — Im allgemeinen waren die parasitischen Pilze gegenüber Tannin empfindlicher als die saprophitischen Formen; allerdings zeigten sich bei verschiedenen Spezies desselben Genus, ja selbst bei verschiedenen Sporen derselben Art Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit. Fusarien (*F. culmorum*, *F. solani*, *F. acuminatum* und 5 nicht näher bestimmte Arten) waren widerstandsfähiger als Gloeosporien und Colletotrichen (*C. lagenarium*, *C. gossypium* und *C. gloeosporioides*). Cladosporien (*C. macrocarpum* und *C. carpophilum*) waren noch widerstandsfähiger als die Fusarien. *Penicillium olivaceum* war von den untersuchten etwa 50 Pilzarten am widerstandsfähigsten.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse kommen die Verff. zu dem Schluß, daß Tannin als natürliches Pflanzenschutzmittel von Bedeutung ist. Die Anhäufung von Tannin an verletzten Geweben ist nach Ansicht der Verff. als Schutz gegen Wundparasiten aufzufassen. Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Küster, Ernst, Über Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse. (Zeitschr. f. Botan. Bd. II. 1910. p. 689—717.)

I. Sprengung der Plasmahaut an plasmolysierten Zellen: An Zwiebel-schuppen von *Allium Cepa* (besonders an anthocyanreichen Varietäten) bemerkte Verf. sehr schön folgende zwei Erscheinungen: Schnelle Zufuhr von Wasser befördert oft das Sprengen der äußersten Plasmaschicht. Allmähliche Zufuhr von Wasser scheint in vielen Fällen den normalen Rückgang der Plasmolyse zu begünstigen. Haptogenmembranen dürften nicht nur an der Außenfläche normaler oder plasmolysierter Protoplasten eine Rolle spielen, sondern auch an anderen Stellen der Zellenleiber. Die von de Vries gesehenen isolierten Vakuolenhäute (Tonoplasten) sind Zellsaftblasen, die von Haptogenmembranen umgeben sind. Es geht ihnen die Fusionsfähigkeit ab z. B. den aus *Allium* zellen durch verschiedene Ein-

griffe leicht isolierbaren Vakuolenblasen oder sie sind fusionsfähig wie z. B. die aus Spirogyrozellen gewonnenen sehr zähwandigen Blasen, von deren Fusion Verf. 1909 schon berichtet hat (Berichte d. d. bot. Ges. Bd. 27. p. 589).

II. Chromatophoren sind nicht fusionsfähig, was von Zellkernen nicht ausgesagt werden darf. Das erst Ausgesagte erleidet Ausnahmen und diese legen die Vermutung nahe, daß auch an der Grenzfläche Protoplasma-Chromatophorenschubstanz eine Haptogenmembran reversibler oder zerstörbarer Natur vorliegen und durch sie die Fusionsfähigkeit der Chromatophoren dauernd oder vorübergehend behindert werden kann.

Welche Rolle diese Oberflächenhäutchen bei Zellkern und Chromatophoren als formbewahrendes formsicherndes Element spielen, ist noch zu untersuchen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Keißler, Karl von, Zweineue Flechtenparasiten aus Steiermark. (Hedwigia. 1911. p. 294—298).

Neu sind:

1) *Phoma physciicola* n. sp., bisher nur in den Apothecien von *Physcia aipolia* Nyl. auf Apfelbaumzweigen bei Hieflau und auf dem Thallus von *Sphyridium fungiforme* Kbr. bei Wien gefunden. Die Unterschiede gegenüber anderen Arten werden genau angegeben.

2) *Lichenophoma Haematommatis* n. g. et n. sp. Zwischen den Sporenträgern sehr lange fädige gebogene verzweigte aufstrebende Hyphenfäden, die keine Sporen abschnüren. Man kann letztere für steril gewordene Sporenträger einer zweiten Ausbildungsart halten oder mit den Paraphysen der Ascomyceten vergleichen. Bei den Flechten treten solche Bildungen in den Pykniden nicht gerade selten auf, an denen (ersteren) angeblich hinwieder einmal Sporen sich bilden können. Die interessante Pflanze lebt auf dem Thallus von *Haematommatis elatinus* Mass. beim Gehäuseeingang.

M a t o u s c h e k (Wien.)

Coker, W. C., A new host and station for *Exoascus filicinum* (Rostr.) Sacc. (Mycologia. II. 1910. p. 247.)

Der Pilz, dessen Synonym *Taphrina filicina* Rostr. ist, war bisher nur aus Schweden bekannt, wo er auf *Dryopteris spinulosa* lebt. Verf. fand ihn auf *Dr. acrostichoides* in Rocky Ridge-Farm in Chapel Hill. als neu für ganz Amerika. Die Asci durchbrechen die Wedeloberfläche nicht, heben sie auch nicht ab, sondern bilden eine dichte Lage auf der Blattoberfläche. Die Größe der Asci ist etwa $33 \mu \times 5-6 \mu$, die Sporen 5μ lang und 2μ dick.

M a t o u s c h e k (Wien).

Kießling, Untersuchungen über die Keimreifung der Getreide. (Landwirtschaftl. Jahrb. f. Bayern. 1911. Nr. 6.)

Während Verf. in früheren Arbeiten im wesentlichen die natürlichen Bedingungen der Keimreife des Getreides studierte, bringt die Fortsetzung derselben die Ergebnisse experimenteller physiologischer Untersuchungen im Laboratorium. Zunächst ließ Verf. verschiedene Gase im abgeschlossenen Raum auf Gerstenkörner einwirken. Die Lagerung in Stickstoff, Kohlensäure, Sauerstoff und Luft ergab keine nennenswerte Unterschiede. Sauerstoff scheint die Keimreifung zu beschleunigen, Kohlensäure scheint sie zu hemmen. Versuche mit verletzten Körnern bestätigen die Hiltner'schen und Behrens'schen Beobachtungen, daß durch Verletzung die Keimung wesentlich gefördert wird. Kombinationsversuche, Anschneiden und Gaseinwirkung zeigten kaum Unterschiede im Vergleich zu den ersten Versuchsreihen. Die Wirkung des Anschneidens der Körner ist nicht etwa durch größere Wasser-

und Gasaufnahmefähigkeit bedingt, sondern ist lediglich als Reizwirkung aufzufassen. Behandlung mit Ätherdämpfen und flüssigem Äther ergab eine Erhöhung der Keimenergie, je nach der Dauer der Einwirkung, eine völlige Aufhebung der Samenruhe kann durch Äthereinwirkung nicht erreicht werden. Ausschlaggebend für die stimulierende Wirkung ist der Keimreifungszustand des Kornes. Je mehr die Keimreifung auf natürliche Weise gefördert ist, desto weniger kommt die Ätherbehandlung zur Geltung. Außerordentlich intensiv ist die Ätherwirkung auf das vorgequellte Korn (daß diese auf lebhafterem Aufsaugen des Äthers beruht, ist unwahrscheinlich bei der geringen Absorption von Äther durch wässrige Flüssigkeiten; sie beruht wohl lediglich darauf, daß die durch die Wasseraufnahme bereits mobilisierten Eiweißkörper des Protoplasmas gleichzeitig in labileren Zustand übergegangen sind!).

Durch Weichen in verdünnten Lösungen anderer Chemikalien, wie Formalin, Natronlauge, Ätzkalk, Schwefelsäure kann die Keimkraft nicht lagerreifer Gersten ebenfalls günstig beeinflußt werden, in gleicher Weise durch Weichen in Wasser, durch das Gase wie Sauerstoff geleitet werden. Auch Versuche durch Trocknung bei erhöhter Luft- und Sauerstoffzufuhr und durch Erhitzen in verschiedenen Gasen lassen eine Beeinflussung der Keimreife erkennen. Analog wie die Vorweiche mit erwärmten Wasser wirkt trockne Erhitzung der Körner, hier wie da stehen die Temperaturen und die Wirkungszeiten in Beziehung zum jeweiligen physiologischen Zustand des Kornes, sie wirken schädlich oder nützlich, je nach dem Stadium der Keimreife.

Den Versuchen mit Gersten folgen gleichsinnige mit Hafer. Ihre Ergebnisse sind folgende: Die Schnelligkeit der Keimreifung ist eine spezifische Eigenschaft der Sorte und weiter jeder einzelnen Linie, sodaß aus einer beliebigen Population bei Hafer Linien mit langer und solche mit kurzer Nachreifebedürftigkeit isoliert werden können. Die einzelnen Sorten und Linien zeigen auch häufig nach erlangter Keimreife und zur Zeit der Saat im Frühjahr eine verschiedene Keimungsgeschwindigkeit. In den vorliegenden Versuchen befinden sich Stämme, bei denen die Schnelligkeit der Nachreife und die Keimungsgeschwindigkeit im Frühjahr gleichsinnig auftreten. Die Beobachtung von A t t e r b e r g, wonach bei jedem Keimreifestadium eine bestimmte Keimtemperatur erforderlich ist, und zwar bei unreifen eine niedrigere als bei reifen, um das volle Keimprozent im Versuch erzielen zu lassen, ist durch die vorliegenden Versuche bestätigt. Durch Anstechen und besonders durch Entspelzen kann Keimungsgeschwindigkeit und Keimprozent keimunreifer Samen erhöht werden. Eine Behandlung mit Sauerstoff wirkt ebenfalls erhöhend auf die Keimgeschwindigkeit des Hafers ein.

Weitere Beobachtungen mit Weizen bestätigen auch für diese Getreideart, daß den einzelnen Sorten eine spezifische Keimreife eigentümlich ist.

Am Schluß der Arbeit gibt Verf. einen zusammenfassenden Überblick über die Ursachen der Samenruhe und die Wirkungen äußerer Beeinflussung und schließt an diese theoretische Betrachtungen, auf deren Inhalt im Original verwiesen werden muß.

S c h a f f n i t (Bromberg).

Mortensen, M. L., Über die durch Fusarien hervorgerufenen Getreidekrankheiten. [Om Sygdomme hos Kornarterne, forårsagede ved Fusarium — Angreb (Fusarioser).] (Tidsskr. for. Landbr. Planteavl. Bd. 18. 1911. p. 177.)

Verf. behandelt in dem ersten Teil der vorliegenden Arbeit die bisher erschienene Literatur über Fusarium - Krankheiten des Getreides und

gruppiert den Stoff in folgende Kapitel: Beschädigungen der Ähren und Körner, Schädigung der Keimfähigkeit, Rote Körner beim Mälzen, Schneeschimmel, Wurzelbrand, Fußkrankheiten, Blattflecken älterer Pflanzen und das Auftreten von „Haferhatte“. In einem zweiten Abschnitt dieses referierenden Teiles behandelt Verf. die Bedeutung der Witterung und des Bodens, die Anfälligkeit verschiedener Sorten, die Infektionsmöglichkeiten, die Infektionszeit, die Bekämpfungsversuche mit Saatgut- und Bodenbehandlung und die Bedeutung des *Fusarium* befalls für die Samenkontrolle.

Im zweiten Teil berichtet Verf. über eigene Beobachtungen. Schneeschimmel zeigte sich häufig nach nassen Sommern; besonders wurde das Getreide in der Nähe von Gehölzen, lebenden Hecken und dgl. befallen, wo sich der Schnee anhäufte und lange liegen blieb. Einzelne Sorten erkrankten stärker als andere. „Wurzelbrand“, d. h. eine Bräunung des untersten Halmteiles zeigte sich in hohem Maße bei Gerste; die Krankheit trat besonders auf sauern Böden auf. Verf. ist wie Hiltner und Ihssen der Ansicht, daß bei Fußkrankheiten Fusarien primär auftreten und daß *Leptosphaeria* und *Ophiobolus* sekundär sind. Zur Bekämpfung des Schneeschimmels eignete sich eine Behandlung des Saatgutes mit warmen Wasser oder mit Kupfervitriol.

Riehm (Gr.Lichterfelde.)

Eriksson, Jakob, F. Zachs zytologische Untersuchungen über die Rostflecken des Getreides — und die Mycoplasma theorie. (Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Bd. 119. 1910. [1911]. Abt. 1. p. 1043—1050.)

Verf. betont, daß Zach in der oben zitierten Abhandlung (l. c. Bd. 119. Abt. I. April 1910) Material vor sich hatte, das nicht aus den primären Uredopusteln stammte, und daß er daher nicht die Mycoplasma stufe (weder im Ruhe- noch im Reifestadium) untersuchte, sondern die als Pseudoparenchym bezeichnete Stufe. Letztere hält Verf., wie früher, nur für Auflösungsstufen. Der Verf. hält es für ganz unmöglich, daß das Mycoplasma sich in sehr feine Mycelienfäden auflösen lasse; er glaubt, daß Zach durch seine sicher interessanten Studien über Mykorrhiza verleitet auch beim Rostkrankwerden des Getreides phagozytische Prozesse annahm und daher auf einen falschen Weg geraten ist. Verf. wünscht, daß auch Zach eingehende Kontrolluntersuchungen auf diesem Gebiete ausführen möge, die jetzt schon an anderen Stellen vor sich gehen.

Matouschek (Wien).

Lemcke, A., Getreideschädlinge. (Georgine. 1910. No. 42. p. 1—2.)

Biologie der Queckeneule (*Hadena basilinea* F.) Die Raupe trat auch um Königsberg in Ostpreußen auf. Falls sie mit dem Getreide in die Scheune gelangt sind, so empfiehlt es sich, das von den befallenen Schlägen stammende Getreide gesondert zu bansen und sehr bald auszudreschen. Das Getreide ist dann zu reinigen und die Raupen sind nebst den von den Wänden und vom Boden gefegten zusammen zu töten (heißes Wasser.)

Matouschek (Wien).

Rörig, G., Die Sommergeneration der Getreideblumenfliege (*Hylemyia coarctata*). (Mitt. a. d. K. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Heft 11. 1911. p. 32.)

Die Sommergeneration von *Hylemyia coarctata* wurde in Raygras gefunden, das zwischen Klee gesät war; es wird daher empfohlen, entweder reinen Klee zu säen, oder die Kleestoppel spätestens Anfang August

möglichst tief umzupflügen, damit die „dann noch in den Graspflanzen vorhandenen Larven sicher an der Weiterentwicklung verhindert werden.“ Sind Wiesen in der Nähe, so kann man durch Aussaat von Fangpflanzen die Saaten am besten vor *Hylemyia coarctata* schützen.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Schellenberg, H. C., Die Brandpilze der Schweiz. (Beiträge z. Kryptogamenflora d. Schweiz. Bd. 3. Heft 2.) 46. u. 180 pp. Bern 1911.

Seitdem Winter in der 2. Auflage von Rabenhorsts Kryptogamenflora im Jahre 1884 auch die schweizerischen Ustilagineen berücksichtigt ist keine zusammenfassende Darstellung über die Brandpilze der Schweiz mehr erschienen. Das vorliegende neue Heft der auf Initiative der schweizerischen botanischen Gesellschaft und auf Kosten der Eidgenossenschaft herausgegebenen „Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz“ ist deshalb sehr zu begrüßen.

Der Verf. macht uns zuerst mit der Geschichte der Erforschung der Brandpilzflora in der Schweiz bekannt, bespricht dann die Verbreitung der schweizerischen Ustilagineen-Arten und die Entwicklung der Brandpilze, ihre Gruppierung und verwandtschaftlichen Beziehungen im allgemeinen. Ein besonderes Kapitel ist der Bekämpfung der Brandkrankheiten gewidmet und ein nach Nährpflanzen geordnetes Verzeichnis der schweizerischen Brandpilze führt zum systematischen Hauptteil hinüber, in welchem die 103 schweizerischen Arten eingehend beschrieben werden. Ein Literaturverzeichnis und alphabetisches Register der Brandpilze und der Nährpflanzen bilden den Abschluß des vortrefflichen Buches.

Neben der Beschaffenheit der Sporen wird auch das Krankheitsbild der befallenen Pflanzen in der Artbeschreibung möglichst berücksichtigt und an zahlreichen Figuren erläutert. Denn es werden, wie der Verf. hervorhebt, kleine Unterschiede in der Beschaffenheit der Sporen leichter übersehen als pathologische Veränderungen an den Nährpflanzen; das Zerstörungsbild erleichtert deshalb die sichere Unterscheidung nahe verwandter Formen sehr.

Unsere Kenntnisse über die Bekämpfung der Brandpilze faßt der Verf. folgendermaßen zusammen:

Für die Bekämpfung des Steinbrandes (*Tilletia Tritici*) und der dem Saatgut anhaftenden Sporen der Flugbrandformen leistet die Saatgutbeize genügende Sicherheit. Bei naktsamigen Getreidearten sind als Beizflüssigkeiten Bordeauxbrühe und Formalinlösungen am wirksamsten und am einfachsten anzuwenden.

Für die bespelzten Getreide, Hafer, Gerste und Spelz ist einzig die Warmwasserbeize zuverlässig genug. Brandpilze mit Narbeninfektion wie *Ustilago nuda* und *Ustilago Tritici* sind nur durch Vorquellen in Kombination mit der Warmwasserbehandlung des Saatgutes zu bekämpfen.

Beim Maisbrand ist neben der Saatgutbeize besonders Gewicht auf die Vertilgung der ersten Brandlager und der Stoppelnrückstände auf dem Felde zu legen.

O. Schneider-Orelli (Wädenswil.)

Tubeuf, Karl, von, Die Brandkrankheiten des Getreides. Darstellung der Stein- und Flugbrandarten von Weizen, Gerste und Hafer. Text für 2 Wandtafeln in farbiger Lithographie. 36 Textfig. Stuttgart (Eug. Ulmer) 1910. Preis der Tafeln 7—8 der II. Serie auf Papier à 5,— M., auf Papyrolin à 6,— M. Preis des Textheftes zu Tafel 7 und 8 zusammen 1,— M.

Die I. Serie der schönen Wandtafeln bringt bekanntlich die Mistel, die Fusikladien der Obstbäume, die Schuppenwurz, die Meltauipilze, die Getreiderostarten. Diesen 6 Tafeln fügt Verf. 2 neue Tafeln bei (Beginn der II. Serie), welche die Brandarten der obengenannten Getreidearten darstellen. Wie die früheren, so zeichnen sich auch diese durch ihren künstlerischen Wert und die Genauigkeit aus. Das beigegebene Textheft bringt die Erläuterungen hierzu (Auftreten, Bekämpfung). Die Tafeln bilden jetzt wohl schon überall einen Schmuck des Tafelinventars landwirtschaftlicher und anderer Schulen. Sie empfehlen sich aber auch für Universitätsvorlesungen von selbst. Gibt es doch keine besseren auf der ganzen Welt.

M a t o u s c h e k (Wien).

Scheunert, A. und Lötsch, E., Fütterungsversuche mit *Tilletia*. (Zeitschr. f. Infektionskrkh. d. Haust. Bd. 9. 1911. p. 177.)

Von 5 Schweinen verschiedener Größe wurden 3 (2 blieben als Kontrollen) während einer Zeit von über 3 Monaten täglich mit großen Mengen brandigen Materials (teils Brandsporenstaub, teils Brandweizen — *Tilletia laevis* und *T. tritici* (*caries*) —) gefüttert. Das Grundfutter (Milch, Kartoffeln, Kleie) war tadellos; Stallverhältnisse und Pflege waren gut. Das Ergebnis der Versuche war negativ: es sind bei den Schweinen keinerlei ernste Erkrankungen im Gefolge der Fütterung aufgetreten. Auch gelang es nicht, durch akute oder chronische, mit Abführmitteln hervorgerufene, experimentelle Reizung des Darmes der Versuchstiere eine Erkrankung derselben durch den Genuß brandigen Futters herbeizuführen. Bei 2 trächtigen Tieren ist trotz reichlicher Brandweizenfütterung ein Verwerfen nicht eingetreten; sie brachten nach normaler Tragezeit voll entwickelte Junge zur Welt, die sich auch bei weiterer Brandweizenfütterung an die Mutter gut entwickelten.

Z e l l e r (Großlichterfelde).

Honcamp, Untersuchungen über die Wirkung der Brandsporen im Futter und im Dünger. (Die landw. Versuchs-Stationen. Bd. 74. 1911. p. 364).

Verf. berichtete auf der Versammlung des Verbandes der landwirtschaftlichen Versuchsstationen zu Hannover im Oktober 1910 über die Wirkung der Steinbrandsporen im Dünger und im Futter. Über den letzteren Punkt sind außer von ihm auch von Pusch, Ellenberger und Scheunert in Dresden Versuche ausgeführt worden, die übereinstimmend ergeben haben, daß die Verabreichung selbst recht bedeutender Mengen von *Tilletia*-sporen an Kälber, Ziegen und Schweine ohne jeden schädlichen Einfluß auf deren Gesundheitszustand war. Selbst kranke und hochtragende Tiere vertrugen das brandsporenhaltige Futter gut. Die eigenen Versuche des Verf. bestätigten diese Befunde vollkommen.

Die weiteren Untersuchungen betrafen die Frage, ob Steinbrandsporen, die den tierischen Magen-Darmkanal passiert haben, keimfähig geblieben sind. Nach den erhaltenen Resultaten muß diese Frage verneint werden. Bei weitem der größte Teil der passierten *Tilletia*-sporen hatte seine Keimfähigkeit verloren. Es konnte beobachtet werden, daß der Aufenthalt unter Wasser die Keimenergie der Steinbrandsporen entschieden verringert hat, und daß der saure Magensaft die Keimfähigkeit der Sporen schon innerhalb kurzer Zeit gänzlich unterdrückt.

Der Kot der landwirtschaftlichen Nutztiere scheint, je nach seiner Herkunft in verschieden starkem Maße, die Keimkraft der Brandsporen zu hem-

men, jedoch niemals gänzlich aufzuheben. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß die Infektionsgefahr, welche auf dem Acker durch brandhaltigen Mist hervorgerufen werden kann, nur eine verhältnismäßig sehr geringe ist.

Bei Feldversuchen mit Weizen kam Verf. zu der Ansicht, daß zunächst eine Übertragungsgefahr durch Düngung des Feldes mit Dung, welcher verfütterte, den Tierkörper passierte Sporen enthält, für die Praxis als höchst unwahrscheinlich und eigentlich auch gar nicht in Betracht kommend zu bezeichnen ist. Weiter, die Übertragungsgefahr durch Brandsporen, welche durch Verstäubung auf den Dung und mit diesem auf den Acker gelangen, erscheint, wenngleich vorhanden, dennoch gering gegenüber der Übertragungsgefahr, welche in der Verwendung eines mit Steinbrandsporen infizierten Saatgutes besteht. Hier kann allein von einer wirklichen Übertragungsgefahr im Sinne eines Ernteausfalles die Rede sein. Gegen diese Form der Übertragung wird sich in erster Linie die Bekämpfung in der Praxis durch die Saatgutbeize richten müssen.

In der sich anschließenden Diskussion bemerkte Steglich, daß er nach früheren und neueren Versuchen zu etwas anderen Ergebnissen gekommen sei. Er konnte beobachten, daß bei längerer Lagerung im Düngerhaufen die *Tilletia* sporen fast gänzlich auskeimen, so daß bei Verwendung alten, gelagerten Stalldüngers die Gefahr der Übertragung dieses Brandpilzes auf die Weizenfelder nur sehr gering, wenn auch nicht völlig ausgeschlossen ist.

Die Keimfähigkeit der *Tilletia* sporen erschien beim Gange durch die Verdauungsorgane des Schweines zwar stark vermindert, es blieben aber genügend Sporen keimfähig, um bei Verwendung frischen Düngers kurz vor der Einsaat des Weizens einen nicht unerheblichen Brandbefall herbeiführen zu können.

Vogel (Bromberg).

Werth, Emil, Zur Biologie des Antherenbrandes. (Arb. a. d. K. Biol. Anst. f. Land- und Forstwirtsch. VIII. 1911. p. 427.)

Ustilago antherarum infiziert nach Brefeld die Blüten von *Melandryum album* in ähnlicher Weise wie *Ustilago nuda* die Blüten der Gerste; das Mycel dringt in die Samenanlage und überwintert im Samen. Hecke hatte dagegen gezeigt, daß aus den Samen infizierter Blüten gesunde Pflanzen erwachsen und daß die Keimlinge sowohl wie die Sprosse von *Ustilago antherarum* infiziert werden können. — Die Versuche des Verf. zeigen, daß allerdings bei *Melandryum album* eine Blüteninfektion stattfinden kann, doch dringt das Mycel erst ein, wenn die Narbe völlig abgestorben ist. Die Samen solcher infizierter Blüten lieferten gesunde Pflanzen. In Übereinstimmung mit Hecke fand Verf., daß bei *Ustilago antherarum* auch Keimlings- und Sproßinfektionen stattfinden können; es gelang ihm auch, männliche Blüten mit Erfolg zu infizieren. In infizierten Pflanzen breitet sich der Pilz nach und nach aus, bis der ganze Stock verseucht ist; bei der Übertragung des Antherenbrandes von einer Pflanze zur anderen spielen blütensuchende Insekten eine wichtige Rolle.

Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Evans, J. B. Pole, South African cereal rusts, with observations on the problem of breeding rust-resistant wheats. (The Journ. of Agric. Science. Vol. 4. 1911. p. 95.)

In Südafrika wurden folgende Getreideroste gefunden: *Puccinia graminis* auf Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, *Puccinia tritici-*

*cin*a auf Weizen, *Puccinia coronifera* auf Hafer und *Puccinia dispersa* auf Roggen. Am häufigsten ist *Puccinia graminis* besonders in der heißen Jahreszeit; der Pilz befällt gewöhnlich die unteren Stengeltriebe zuerst und breitet sich von hier aus auf die Blätter aus. Außer an Getreide wurde *P. graminis* auch an *Dactylis glomerata*, *Lolium temulentum* und *Festuca elatior* gefunden; Aecidien sind noch nie gefunden.

Was die Spezialisierung anlangt, so hat Verf. 3 Formen ermitteln können. Besonders auffallend verhält sich die Form auf Roggen, weil sie nie die Blätter sondern nur die Stengel befällt; alle Infektionsversuche an Roggenblättern waren vergeblich. Die *F. secalis* kann nicht auf Weizen, wohl aber auf Gerste übertragen werden; ob sie auch hier nur die Stengel befällt, ist aus der Darstellung nicht zu ersehen. — Die zweite Form von Weizen infiziert auch Gerste aber nicht Roggen und Hafer; die dritte Form von Hafer infiziert weder Weizen noch Gerste.

Verf. kreuzte eine gegen Schwarzrost sehr widerstandsfähige Weizensorte mit einer sehr anfälligen und baute die Nachkommen neben dem Samen der Eltern an. Die Pflanzen wurden möglichst gleichmäßig infiziert; auf den widerstandsfähigen Pflanzen, es waren 8, zeigten sich 71 kleine Rostpusteln, auf ebensoviel anfälligen Pflanzen 595 und auf 8 aus der Kreuzung beider hervorgegangenen Pflanzen 638 Rostpusteln. Auch bei anderen Versuchen erwiesen sich die aus der Kreuzung resistenter und anfälliger Pflanzen hervorgegangenen Pflanzen als sehr anfällig für Schwarzrost. Die Rostsporen von den Hybriden infizierten die widerstandsfähige Elternpflanze sehr leicht; auch gegenüber dem wenig widerstandsfähigen Elter war der Rost an den Hybriden sehr virulent. „Die Pathogenität des Schwarzrosts war also größer geworden, nachdem er eine ihm sehr zusagende Wirtspflanze passiert hatte.“

R i e h m (Gr.-Lichterfelde).

Vickery, A. R., Contributions to a knowledge of the Corn Root-Aphis. (U. S. Depart. of Agricult. Bureau of Entom. Bullet. No. 85. Part. 6. p. 97—118).

Aphis maidi-radici Forbes („Corn Root-Aphis“) tritt außer auf Mais auch auf *Sorghum* auf; ja sie bringt Erkrankungen an den Wurzeln junger Baumwollpflanzen, ferner an Asten, an Stachelbeeren, an Kohlpflanzen, der französischen Artischoke und auf Dahlia hervor. Auf die letztgenannten Kultur- bzw. Zierpflanzen gelangen sie wohl auf folgendem Wege: Entweder dadurch, daß das Jahr vorher auf dem betreffenden Felde Mais gepflanzt war, der durch die *Aphis*-Art gelitten hat, oder aber von Unkraut oder anderen Pflanzen aus, da die Art viele nicht kultivierte Pflanzenarten befällt. Von solchen nennen wir z. B. *Polygonum persicaria*, *Digitaria sanguinalis*, *Portulaca oleracea*, *Rumex crispus*, *Setaria glauca*, *Brassica nigra*, *Oxalis stricta*, *Plantago maior*, *Ambrosia trifida*, *Amaranthus hybridus*. — Die Versuche des Verf., der die flügellosen Weibchen der *Aphis maidi-radici* von den Wurzeln diverser obengenannter Pflanzen auf die Wurzeln der erwähnten wichtigsten Kulturpflanzen übertragen hat, zeigten, daß man es mit einer und derselben Art von *Aphis*, eben der genannten, zu tun hat. Die Ameise *Lasius niger* L. var. *americanus* Emery schleppt die Eier der *Aphis* in das Nest und die Larven später auf die Wurzeln der Maispflanzen. Präventive Maßregeln werden angegeben: Abwechslung der

Frucht auf dem betreffenden Felde, Erhaltung der Bodenfertilität (Stärkung der Wurzeln der Kulturpflanzen), zeitliches Pflügen bei mehrmaliger Kultur auf demselben Felde. **F o r b e s** Versuche zeigten, daß von den diversen angewandten chemischen Abwehrmitteln das Zitronenöl sich als das beste erwiesen hat und zwar 1 Teil dieses Öles auf 9 Teile gewöhnlichen Alkoholes (3 Unzen dieses Gemisches auf 1 Gallon Mais). — Verf. beschreibt den Schädiger nach jeder Richtung sehr genau, die einzelnen Entwicklungsstadien werden abgebildet.

„The Erigeron Root-Aphis“ (= *Aphis middletoni* Thos.) wurde bisher auf *Erigeron canadensis* und *E. ramosus* in N. W. der Union und in Carolina, auf *Aster subulatus* (bei Salisbury), jedoch auch auf *Cosmos bipinnatus*, *Cynara scolymus*, *Callistephus hortensis* bemerkt. Ähnliche Versuche wie oben angegeben, zeigten wohl die Übertragbarkeit auf Mais und Baumwollstaude. Es scheint aber die *Aphis middletoni* doch eine besonders gute Art zu sein. —

In einer Karte wurde die Verbreitung der 2 Arten detailliert (d. h. nach den wichtigeren Kulturpflanzen) eingezeichnet. **Matouschek** (Wien).

Ilits, Hugo, Über eine durch Maisbrand verursachte intracarpellare Prolifikation bei *Zea Mays* L. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. 69. 1910. p. 331—345.) M. 2 Taf.

Zwei Kolben von *Zea Mays* L., in Südmähren geerntet, waren von normalen Lieschen umhüllt, besaßen aber an Stelle der Früchte 1—2 cm lange grüne, in griffelartige Fäden auslaufende Schläuche, die an der Basis von vergrößerten Spelzen umgeben waren. Die Ährchen dieser Kolben zeigen stark vergrößerte Spelzen in der Normalzahl und -Anordnung. An Stelle des Karpells steht der oben erwähnte 10—20 cm lange Schlauch, der in einen bis 2 dm langen griffelartigen Faden ausgeht. Eine Ligularbildung im Innern dieses Schlauches, die ihn in einen unteren, den Fruchtknoten, und einen oberen, dem Griffel homologen Teil scheidet, bestätigt die Anschauung, daß der Fruchtknoten der Vagina, der Griffel und die Narbe dem Stiel und der Lamina bzw. der Lamina allein entsprechen. Der Schlauch enthält in sich als Verlängerung der Achse einen abnormalen beblätterten Sproß. Die ganze Bildung ist also als mediane intercarpellare foliare Prolifikation aufzufassen. Die wahrscheinliche Ursache der monströsen Ausbildung ist der Maisbrand, *Ustilago Maydis* P. Magn. **Matouschek** (Wien).

Stettner, O., Eine Monstrositätenbildung bei Mais (Wien. landwirtschaftl. Zeitg. Jahr. 61. 1911. p. 675—376).

Auf einem Versuchsfelde bei Znaim (Mähren) zeigte der Mais mitunter einen Teil der ♂ Blüte in einem mit völlig ausgebildeten Körnern versehenen Kolben umgewandelt. (Sorte Cinquantin). Beim großkörnigen Landmais war das gleiche zu bemerken, nur daß der Kolbenansatz hier ganz fehlte.

Matouschek (Wien).

Székaes, Elemér, Erfahrungen über die Rostkrankheit des Weizens. (Wien. landwirtsch. Zeitg. Jg. 61. 1911. p. 609.)

Einige der kultivierten Weizensorten, die keine Widerstandsfähigkeit dem Roste gegenüber zeigten, wurden verhältnismäßig früher als andere Sorten gänzlich von *Uredo* befallen. Diese im höchsten Grade rostkranken

Familien waren auch heuer schon Mitte Mai vollkommen rostig. Die angrenzenden Parzellen waren teils intakt, teils nur sehr wenig von der Krankheit (*Puccinia glumarum*) ergriffen. Diese Ergebnisse beweisen vollkommen, daß die Rostkrankheit nicht allein infolge primärer Infektion (Übertragung der Aecidiosporen) aufzutreten pflegt, sondern in erster Linie als vererbte Krankheit zum Ausbruche gelangt, wenn die Witterung dazu geeignet ist. Der Samen ist der Träger der Krankheit.

Die 1906 durch Ausscheidung aus dem Wirtschaftswitzen gewonnenen Elitetypen wurden nicht bloß auf Grund der Erträge und der Frühreife, sondern auch der Beobachtungen, wie sich die einzelnen Typen dem Roste gegenüber verhalten, weiter gesichert, so daß von den 214 Eliten nun jetzt 14 Reinzuchten in Vermehrung stehen. Diese Familien zeigen jetzt ganz sicher weniger Rost als die übrigen Weizentafeln, die von einem Gemisch der einzelnen Typen herrühren. Es kann also die Rostkrankheit durch die Pedigreezucht insbesondere bekämpft werden. Verf. hofft, die Weizenerträge bedeutend zu steigern. Verf. ist warmer Anhänger der Erikson'schen Mykoplasmatheorie.

M a t o u s c h e k (Wien).

Miczyński, R., Der Einfluß des Steinbrandes auf die Form der Weizenähren. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswes. in Österreich. Jg. 14. 1911. p. 232.)

Die Zwergweizensorten *Triticum compactum* var. *hystrix* Kcke., *Tr. comp.* var. *erinaceum* Desvaux und *Tr. comp.* var. *echinodes* Kcke. waren stark von Steinbrand (*Tilletia tritici* Wts.) befallen, wobei alle erkrankten Individuen bedeutend längere und mehr lockere Ähren aufwiesen. Eine Beimischung einer fremden lockerährigen Weizenvarietät von Vulgaretypus war ausgeschlossen. Die Verlängerung der kranken Ähren war sehr bedeutend und betrug einige Zentimeter. Der Ährenabstand betrug 3,8 bzw. 5,5 mm gegenüber 2,4 bzw. 3,2 mm bei gesundem Weizen. Ähnliche Erscheinungen sind aus der Literatur beim Squareheadweizen bekannt, doch treten sie hier in viel weniger deutlicher Weise auf. Appel sieht die Ursache in atavistischen Erscheinungen, indem er glaubt, Squarehead gehe in den beschriebenen Fällen in eine lockerährige Weizenform über, aus welcher er aller Wahrscheinlichkeit nach entstanden ist. Ob es sich im vorliegenden Falle auch um eine atavistische Erscheinung handelt, die infolge einer Störung des Gleichgewichtes der gestaltenden Faktoren der Wirtspflanze unter dem Einflusse des Parasits zutage tritt, will Verf. nicht entscheiden, da die Wissenschaft bis jetzt über die Entwicklungsgeschichte und Abstammung der Weizenformen noch sehr im unklaren ist.

Stift (Wien).

Whetzel, H. H. and Reddick, Donald, Development of *Claviceps*. (Phytopathology. Vol. 1. 1911. p. 50.)

Sklerotien von *Claviceps purpurea*, die auf dem Erdboden im Freien überwintert waren und im April in feuchten Sand gelegt wurden, bildeten Perithezien; Sklerotien dagegen, die im Laboratorium trocken aufbewahrt worden waren, hatten ihre Keimfähigkeit verloren.

Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Warburton, C. W., Ergot on oats. (Botan. Gazette. Vol. 51. 1911. p. 64.)

Im Juli 1909 fand sich in Ames, Iowa, Mutterkorn (*Claviceps purpurea*) an Hafer. Der Fund ist für die Vereinigten Staaten neu. Der Pilz

trat auf einer Haferrasse auf, die gegen Brand (smut) immun ist. Das Jahr 1909 war besonders günstig für die Entwicklung des Mutterkorns. 1910 wurde *Claviceps* auf Hafer nicht wieder gefunden. Der Parasit ist durch ein Habitusbild nach Photographie illustriert. W. Herter (Tegel.)

Wagner, Eine neue Haferkrankheit, ihre Entstehung und Bekämpfung. (Landwirtsch. Mitteil. f. d. Prov. Sachsen. 1911. p. 49.)

In Sachsen usw. leidet der Hafer in den letzten Jahren sehr stark unter einer Krankheit, bei der die ganze Pflanze stark gerötet ist. Zuerst wird die oberste Blattscheide rot, dann die Rispe, Blätter, die anderen Stengelteile. Die befallenen Pflanzen bleiben niedrig, höchstens wächst ein Halm vollkommen auf, die anderen stehen zurück; die Körner werden gar nicht oder nur unvollkommen ausgebildet. Das oberste Halmglied eigenartig gewunden. Ursache der Krankheit ist die Milbe *Tarsonemus spirifex*. Sie läßt sich nicht so leicht wie etwa *Thrips* herausschütteln. Die Überwinterung des Tierchens findet entweder auf dem Felde statt (Zurückziehen in die Stoppel) oder in den Spelzen der Körner oder auch in die Fraßstelle selbst. Bekämpfungsmittel:

1) Die Fruchtfolge darf für die nächsten 2—3 Jahre kein Hafer sein, weil die Milben so lange lebensfähig bleiben.

2) Wo ein Haferfeld an die Stoppel eines vorjährigen kranken Feldes stößt, ist ein Schutzstreifen mit Kartoffeln von $\frac{1}{2}$ —1 Rute Breite anzulegen.

3) Hafer soll in infizierten Gegenden nicht frischen Mist erhalten, oder nur solchen, der keine Haferstrohreste enthält. Nachbarfelder sind durch Mist mit Haferstroh schon angesteckt worden.

4) Nur gesundes reines Saatgut ist zu verwenden.

5) Rechtzeitige Saat (spätgesäter Hafer ist immer gefährdet), reichliche Düngung mit Superphosphat, gutes Gedeihen des Hafers) erkrankte Pflanzen von starkem Wuchs und frühzeitiger Entwicklung haben die Krankheit überwunden). Matouschek (Wien).

Munerati, O., La Sphacelotheca reiliana Kühn nel Sorghum halepense. (Stazioni speriment. agrar. Vol. 43. 1910. p. 718—722.)

Auf der im niederen Potale verwilderten und mitunter zu einem sehr lästigen Unkraut gewordenen Aleppohirse fand Verf. den genannten, bisher nur auf *Sorghum vulgare* und Mais beobachteten Pilz. Die befallenen Pflanzen verzweigen und kommen zur Samenbildung überhaupt nicht, so daß die Verbreitung dieser Brandart zu einer wichtigen Hilfe bei dem Kampf gegen dieses Unkraut werden könnte. Pantanelli (Roma.)

Dean, W. Harper, The Sorghum Midge (Contarinia [Diplosis] sorghicola Cog.). (U. S. Depart. of Agric. Bur. of Entom. Bull. 85. Part. 4.) Washington 1910.

Die gründlichste Darstellung der Entwicklung und des Lebens der Sorghum-Mücke (*Contarinia sorghicola*). Im Süden und Südosten der Vereinigten Staaten tritt sie auf und zwar auf diversen Sorten von *Sorghum Setarica glauca*, *Sieglingia seslerioides*. —

Die natürlichen Feinde des schädlichen Insektes sind: Die Parasiten *Aprostocetus diplosidis* Crawford (Hymenopter) und *Tetrastichus* sp. Matouschek (Wien).

Goverts, W. J., Über Spargelkäfer. (Gartenflora. Bd. 60. 1911. p. 336.)

Verf. beschreibt die Spargelschädlinge *Crioceris asparagi* und *C. duodecimpunctata* und empfiehlt zur Bekämpfung früh am Morgen, wenn die Käfer noch erstarrt sind, die Tiere abzuschütteln und dabei einen in eine Flasche führenden Trichter unterzuhalten.

Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Heald, F. D., *Rhizoctonia medicaginis* in Amerika. (Phytopathology. Vol. 1. 1911. p. 103.)

Verf. berichtet von dem Auftreten von *Rhizoctonia medicaginis* D. C. (*R. violacea* Tul.) in Amerika.

Riehm (Gr.-Lichterfelde.)

Uzel, H., Krankheiten und Feinde der Zuckerrübe in Böhmen und anderer kultivierter Pflanzen im Jahre 1909. (Zeitsch. f. Zuckerind. in Böhmen. Jg. 35. 1911. p. 563.)

Die Zuckerrüben litten, wie in den vorhergehenden Jahren, am meisten durch die Rüben nematoden. Der Schlamm aus Reinigungsteichen, denen genügend Kalkmilch zugesetzt worden war, um das abfließende Wasser alkalisch zu machen, enthielt kein organisches Leben. Zur Bekämpfung der Nematoden wurde von einem Praktiker empfohlen, die jungen, stark befallenen Rübenpflanzen auszuackern und an der Oberfläche des Feldes liegen zu lassen, damit sie austrocknen, wodurch die Anzahl der Schädiger verringert wird. Weitere Beobachtungen betrafen das Auftreten der folgenden Rübenschädiger: Bakterien als Verursacher des Wurzelbrandes, den Pilz *Sporidesmium putrefaciens*, Erdraupen, Runkelfliege, schwarze Blattlaus und Drahtwürmer, Erdflöhe, Rübenblattwespe, Kleinzirpen, (hauptsächlich die Zwergzikade *Cicadula sexnotata* Fall und die Art *Chlorita flavescens* Fb.) den Pilz *Cercospora beticola* Sacc, Blattflecken verursachende Bakterien, Herzfäule, Rübenschwanzfäule, Schorf, Spinnmilbe, den Springschwanz, *Sminthurus luteus* Lubb. und die Blindwanze *Lygus campestris* L. Bemerkenswert war eine Zuckerrübenkrankheit, bei der auf den Blattstielen viele dunkle Punkte und Striche auftraten, deren Zellen mit Bakterien angefüllt waren. Von den in den letzten Jahren gefangenen 40 Arten von Blattflöhen gehörten 80 % der Art *Aphalara calthae*, einige von den übrigen der Art *Trioxa nigricornis* Flor. an.

Was die anderen Kulturpflanzen anbetrifft, so litt Weizen durch die Zwergzikade, Kleinzirpen und Blasenfüße (Thysanopteren), Roggen ebenfalls durch Zwergzikaden und Blasenfüße, Gerste besonders durch die Zwergzikade (reife Gerstenkörner waren mit Bakterien angefüllt, ähnlich dem Auftreten von *Micrococcus tritici* Prillieux beim Weizen), Hafer durch die Zwergzikade, Rüben nematoden und Blasenfüße, Getreide in Speichern durch den Kornkäfer *Calandra granaria* L., Reis durch den Reiskäfer *Calandra oryzae* L. und Mais durch den Beulenbrand *Ustilago maydis* Tul. Lang herrschende feuchte Witterung begünstigte das Auftreten von Bakterien in der Kartoffel. Die Krankheit äußerte sich in der Weise, daß zuerst das äußerste Ende der Hauptwurzel zu faulen begann und dann die Fäulnis in der Achse der Wurzel nach oben fortschritt. Anfangs Juni wurde der äußerste Teil des Stengels angegriffen, im Laufe des Julis wurde die Stengelbasis ganz schwarz und fing zu faulen an. Die jungen Knollen bleiben lange Zeit scheinbar unbeschädigt, doch gehen sie später in Fäulnis über. Sobald die

Bakterienfäule die ganze Pflanze ergriffen hat, fault der Stengel an der Basis ganz durch und die Pflanze fällt um. (Zweifelloos liegt hier die sog. „Schwarzbeinigkeit“ vor.) Gleich von Anfang an, wurden in den veränderten Geweben Bakterien in großer Menge beobachtet. Mitte August sind die Knollen von einem übelriechenden Brei angefüllt, in welchem Milliarden von Bakterien und vollkommen unversehrte Stärkekörner zu beobachten sind, die von den Bakterien nicht angegriffen werden. Befallene Pflanzen sind vom Felde zu entfernen, zu verbrennen oder mit Kalk zu kompostieren. Auf infizierten Böden ist der Kartoffelbau einige Jahre einzustellen. Zu vermeiden ist ferner die Verwendung größerer Mengen stickstoffhaltiger Düngemittel, sowie Kalk. Weiter wurde ein Faulen und Zusammenschrumpfen von Zichorienwurzeln und ein Eintrocknen von Wurzeln der Pferdebohne beobachtet, im letzteren Falle zufolge Angriffe verschiedener Pilze. Unter diesen wurden überaus zahlreiche Sporen eines *Fusariums* und Bakterien beobachtet.

Stift (Wien.)

Stift, A., Zur Geschichte des Wurzelbrandes. (Österr.-Ungar. Zeitschr. f. Zuckerindust. u. Landwirtsch. Jg. 40. 1911. p. 211.)

Die ersten Nachrichten über den Wurzelbrand liegen seitens des Prager Großhändlers Anton Richter aus dem Jahre 1812 vor, der diese Krankheit beschrieb und den Landwirten schon damals empfahl, zu ihrer Bekämpfung Kalk anzuwenden. Die nächste Mitteilung über den Wurzelbrand hat Verf. dann in dem im Jahre 1834 erschienenen Buch von Dr. Ludwig August Krause „Darstellung der Fabrikation des Zuckers aus Runkelrüben in ihrem gesamten Umfange“ gefunden, in dem es heißt, daß nach Dombasle die Rübe in ihrer Jugend einer Krankheit unterworfen sein soll, die „Chaudépié“ (Wurzelbrand) genannt wird. Verf. gibt nun auf Grund der ihm zugänglichen Literatur ein Bild über die Geschichte dieser Krankheit unter Hervorhebung aller derjenigen Ratschläge und Ansichten die über ihr Wesen und zu ihrer Bekämpfung geäußert worden sind. Wie die Sachlage jetzt steht, so kann über den Wurzelbrand in seinen Ursachen und Bekämpfungsmaßregeln noch kein abschließendes Resumé gegeben werden. Die geäußerten Ansichten haben sich vielfach wiederholt und auch die in jüngster Zeit aufgetauchten Bodendüngungs- und Bodenverbesserungsbestrebungen haben Vorläufer in früheren Jahren gehabt. Die ganze Frage wird vielfach darauf hinauslaufen, lokal und für bestimmte Fälle behandelt zu werden, um mit Berücksichtigung der herrschenden Faktoren und Verhältnisse eine ge-
deihliche Lösung zu finden. Als feststehend ist auszusprechen, daß der Wurzelbrand, der mit seinen Publikationen so ziemlich an der Spitze der Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen steht und als die wichtigste Rübenkrankheit anzusehen ist, wohl noch lange die Forschung und Praxis beschäftigen wird.

Autoreferat.

Peters, L., Über die Erreger des Wurzelbrandes. (Arb. a. d. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 8. 1911. p. 211.)

Verf. hat in dieser Arbeit die Ergebnisse seiner über 5 Jahre ausgedehnten Versuche niedergelegt, über die er bisher nur kürzere Mitteilungen gemacht hat. (Vgl. d. Ref. Bd. 22. p. 487). Es gelang ihm, nachzuweisen, daß der Wurzelbrand der Rüben durch *Pythium de Baryanum*, *Phoma betae* und *Aphanomyces laevis* hervorgerufen werden kann.

Pythium de Baryanum wurde zuerst von Hesse als Parasit von Rüben beschrieben und eine ganze Anzahl anderer Autoren gaben den Pilz als

Erreger des Wurzelbrandes an. Bisher fehlten aber Infektionsversuche mit Reinkulturen; Verfasser gelang es, den Pilz in Reinkultur zu züchten und erfolgreiche Infektionen anzustellen. Eine Schwierigkeit bei den Infektionsversuchen bildete die Sterilisation des Rübensaatgutes; Saatgutbehandlung mit Salzsäure hatte nicht den gewünschten Erfolg, es gelang aber, schnell getrocknetes Saatgut eigener Ernte durch eine Behandlung in konzentrierter Salzsäure ($\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Std.) und am folgenden Tag vorgenommene Heißwasserbehandlung (10 Min. in sterilisiertem Wasser von 56 °C) völlig zu desinfizieren. Die Infektion mit *Pythium* zeigte, daß der Pilz im Stande ist, „die noch in der Samenhöhle befindlichen Samen und die jungen Keimlinge, ehe sie sich über den Erdboden erhoben haben, abzutöten.“ Diese Erscheinung trat fast immer auf, wenn die Infektion des Bodens am Tage der Aussaat vorgenommen wurde. Wurden die Töpfe nach dem Auflaufen der Saat infiziert, so erkrankten die Keimlinge am Wurzelhals. Die Spitze der Hauptwurzel wird bisweilen von dem Pilz zum Absterben gebracht, auch junge Seitenwurzeln werden abgetötet.

Phoma betae hatte Krüger als Erreger des Wurzelbrandes angegeben. Verf. machte Infektionsversuche mit Reinkulturen des Pilzes, deren eine von erkrankten Keimlingen stammte, zwei weitere waren aus Pykniden von trockenfaulen Rüben gezüchtet und eine stammte aus einer Blattflecken-Pyknide (*Phyllosticta betae*). Sämtliche Kulturen riefen bei der Infektion das gleiche Bild hervor. Die Keimung wird durch *Phoma* nicht beeinträchtigt, erst die jungen Keimlinge werden am Wurzelhalse infiziert. Ein Teil der Keimpflanzen ging ein, die Mehrzahl blieb am Leben, doch wurden diese Pflanzen im Wachstum nicht unerheblich beeinträchtigt.

Aphanomyces laevis wurde vom Verf. zuerst als Erreger des Wurzelbrandes bezeichnet. Die Infektion mit Reinkulturen zeigte, daß der Pilz zwar nicht wie *Pythium* die Samen vor der Keimung abtöten kann, aber doch die jungen Keimlinge, die mit den Kotyledonen noch im Samen stecken, zu infizieren vermag, sodaß eine Verminderung des Auflaufs eintritt. Die hellolivgrüne Färbung des erkrankten Gewebes ist für *Aphanomyces* besonders charakteristisch. Nicht nur das Hypokotyl kann von dem Pilz infiziert werden, sondern auch die Seitenwurzeln älterer Rüben; in den erkrankten Seitenwurzeln fanden sich zahlreiche Oosporen. Auch die Hauptwurzel kann von *Aphanomyces* wie von *Pythium* infiziert werden.

Von den Pilzen, die von anderen Autoren als Erreger des Wurzelbrandes bezeichnet sind, prüfte Verf. *Rhizoctonia violacea*; Infektionsversuche mit dem kranken Gewebe rotfauler Zuckerrüben fielen negativ aus. Endlich prüfte Verf. die von verschiedenen Seiten aufgestellte Behauptung, daß eine große Zahl von Pilzen „bei hinreichender Schwäche der Rübenkeimpflanzen“ den Wurzelbrand hervorrufen können; er infizierte die Rübenkeimlinge mit folgenden Pilzen: *Cladosporium herbarum*, *Sporodesmium putrefaciens*, *Botrytis cinerea*, *Pythium artotrogus* und *Phytophthora omnivora*. „Keiner dieser Pilze war unter den für Entstehung des Wurzelbrandes günstigen Versuchsbedingungen im Stande, die Krankheit zu erzeugen. Die Annahme, daß beliebige Schwächeparasiten den Wurzelbrand hervorrufen können, ist eine irrig.“

Die Fraßbeschädigungen durch *Atomaria linearis* können unter Umständen eine gewisse Ähnlichkeit mit dem durch *Pythium*, *Phoma* und *Aphanomyces* hervorgerufenen Krankheitsbild haben; doch schlägt

Verf. vor, nur die von den genannten Pilzen hervorgerufenen Krankheiten als Wurzelbrand zu bezeichnen. R i e h m (Gr.-Lichterfelde.)

Hegy, D., Der Wurzelbrand der Zuckerrübe und seine Verhütungsmaßregeln. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 21. 1911. p. 269—276).

Die vom Wurzelbrand befallenen Rüben weisen schwarze, fadendünne Würzelchen auf und gehen frühzeitig zu Grunde. Die Krankheit tritt häufig in solchem Umfange auf, daß der Rübenbauer zwei oder dreimal frisch säen muß. Verf. isolierte aus erkrankten Rübenwurzeln die Pilze *Phoma betae* *Pythium Debaryanum* und fünf oder sechs Bakterien. Alle diese Pilze befanden sich auch am Samenknäuel sowie im Boden. Jeder von ihnen soll im Stande sein, den Wurzelbrand hervorzurufen. Unter diesen Verhältnissen schien jede Bekämpfung zwecklos.

Verf. beobachtete nun, daß gut getrocknete Samen viel besser keimten, als die gewöhnliche Handelsware. Die Keimpflanzen waren bedeutend kräftiger, und während sich unter den nicht getrockneten Vergleichspflanzen eine große Menge wurzelkranker Exemplare befand, blieben sämtliche Keime aus getrockneten Samen gesund.

Es ergibt sich also als wichtige Maßregel zur Verhütung des Wurzelbrandes, daß der Landwirt den Rübensamen vor der Aussaat einem Austrocknungsverfahren unterwerfen muß, und zwar sollte Rübensamen von mehr als 10% Wassergehalt zur Aussaat nicht verwendet werden. Daneben ist auf gute Düngung zu achten. Häufig sind Superphosphate und Kalisalze erforderlich, vielfach ist aber auch Stalldüngung anzuraten. W. H e r t e r (Tegel).

Busse, W., Peters, L. u. Ulrich, P., Über das Vorkommen von Wurzelbranderregern im Boden. (Arb. a. d. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. 8. 1911. p. 260.)

Nachdem Busse und Ulrich bereits gezeigt hatten, daß von den drei Erregern des Wurzelbrandes nur *Phoma betae* am Saatgut vorkommt, haben die Verff. der vorliegenden Arbeit Untersuchungen über das Vorkommen von Wurzelbranderregern im Boden angestellt. Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, daß pasteurisierte Rübensaat in Töpfe mit verschiedenen Böden gesät wurde; die Töpfe wurden mit sterilisiertem Wasser begossen und nach Möglichkeit vor Fremdinfectionen geschützt. Es zeigte sich, daß „die drei bekannten Wurzelbranderreger in allen Teilen des deutschen Reiches verbreitet sind. Die Mehrzahl der Erkrankungen entfällt auf Infektionen durch *Phoma betae*, weil dieser Pilz überall in reichlicher Menge durch die Rübensaat auf den Acker verschleppt wird.“ „In den verschiedenen Jahren wechselt das numerische Verhältnis der einzelnen Wurzelbranderreger zur Gesamtzahl der Erkrankungen. Die oft nicht unbeträchtlichen Unterschiede sind unabhängig vom Zeitpunkt der Probeentnahme und dem Entwicklungsstadium der untersuchten Pflanzen. Von großem Einfluß scheint dagegen die Frühjahrswitterung zu sein. Durch feuchtes Wetter während und nach der Bestellung werden *Pythium* und *Aphanomyces* begünstigt, bei trockenem Wetter überwiegt *Phoma*. Nach dem vorliegenden Material tritt der Wurzelbrand besonders stark auf folgenden Bodentypen auf: a) Schweren, zum Verkrusten neigenden Lehmböden; b) humusreichen Niederungs- und Moorböden, sowie Böden, die unter stauender Nässe leiden; c) lehmigen Sand- und Sandböden. Bestimmte Beziehungen

zwischen dem Auftreten der einzelnen Wurzelbranderreger und der Bodenbeschaffenheit lassen sich nicht nachweisen.“ Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Němec, B., Über eine Chytridiazee der Zuckerrübe. (Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 29. 1911. p. 48—50.)

In den Rindenzellen der Seitenwurzeln der Zuckerrübe fand Verf. eine Chytridiazee, die einer neuen Gattung angehört und von ihm *Sorolpidium Betae* n. g. n. sp. genannt wird. In der kurzen Mitteilung, zu deren Veröffentlichung sich Verf. durch das Erscheinen einer Arbeit von Maire und Tison über Plasmodiophorazeen veranlaßt sah, werden einige zytologische Merkmale mitgeteilt, welche die Auffassung, daß eine neue Gattung vorliege, stützen und eine bisher nicht angenommene Verwandtschaft zwischen Chytridiazeeen und Plasmodiophorazeen dartun. Eine Beschreibung des neuen Pilzes soll im Bulletin der Akademie in Prag erfolgen.

K. Müller (Augustenberg).

Stift, A., Zur Geschichte der Herz- und Trockenfäule. (Österreich.-Ungar. Zeitschr. f. Zuckerind. u. Landwirtsch. Jg. 40. 1911. p. 252.)

Die Herz- und Trockenfäule ist wohl noch nicht so lange bekannt als der Wurzelbrand, gehört aber doch auch zu den ältesten Rübenkrankheiten, da die ersten Nachrichten über sie aus der Mitte der vierziger Jahre des vorigen Jahrhunderts vorliegen. Die Krankheit kann in ihrer Art oft noch weit gefährlicher als der Wurzelbrand und für die Rentabilität des Rübenbaues ein um so gewichtigerer Faktor werden, als bei ihrem Auftreten in viel späterer Zeit von einem Nachbau keine Rede sein kann und die Rübenernte unter Umständen rettungslos verloren ist. Es ist daher begreiflich, daß die Herz- und Trockenfäule eine umfangreiche Literatur gezeigt hat, auf die Verf. nach den ihm zugänglichen Quellen näher eingeht und alle Publikationen bis zur jüngsten Zeit hervorhebt. Bei Überblickung aller geäußerten Ansichten ergibt sich deutlich, daß dieselben über das Wesen und die Bekämpfung der Krankheit noch sehr schwanken und in manchen Punkten ziemlich auseinander gehende Meinungen bestehen. Die Bestrebungen der letzten Jahre lassen ganz deutlich erkennen, daß eine direkte Bekämpfung der Krankheit unmöglich ist. Ein aussichtsvoller Weg eröffnet sich dagegen in der Richtung hin, durch geeignete Kultur und Düngung des Bodens und durch geeignete Behandlungsweise der Pflanzen vorbeugend gegen die Krankheit zu arbeiten. Die gewonnenen Resultate lassen sich allerdings nicht verallgemeinern, da bei allen Maßregeln, die Kultur- und Düngungsverhältnisse betreffen, gerade die lokalen Verhältnisse eine gewichtige Rolle spielen. Man wird sich daher auch auf dem Gebiete der Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten spezialisieren müssen. Wenn es nun gelingt, diejenigen Mittel und Wege ausfindig zu machen, die geeignet erscheinen, auf eine Krankheit vorbeugend zu wirken, dann ist auch zu ihrer Bekämpfung ein wesentlicher Schritt nach vorwärts getan, der in der Zukunft erhoffen läßt, daß nicht nur die Herz- und Trockenfäule, sondern auch der Wurzelbrand ihren gefährlichen Charakter verlieren werden.

Autoreferat.

Schander, B., Einfluß des Bodens, der Bodenbearbeitung und der Düngung auf das Auftreten des Wurzelbrandes und der Herz- und Trockenfäule. (Die Deutsch. Zuckerind. Jg. 36. 1911. p. 447.)

Die letzten Ursachen der Entstehung dieser Krankheiten sind noch nicht

bekannt. Früher führte man die Wirksamkeit dieser Krankheiten auf parasitische Organismen, insbesondere auf *Phoma betae*, zurück, doch weisen die neueren Untersuchungsergebnisse darauf hin, daß diesen Organismen nur eine sekundäre Bedeutung zuzusprechen ist. Zunächst gehen Ernährungsstörungen voraus, die die Zellen des Keimlings oder der erwachsenen Rüben für die Besiedelung mit den fraglichen Organismen vorbereiten. Über die bei der Entstehung des Wurzelbrandes in Frage kommenden Ernährungsstörungen ist man theoretisch auch heute noch wenig unterrichtet, doch scheint es aber nach den Untersuchungen von Stoklasa und Schander, daß ein Luftmangel Störungen des Wurzelwachstums bedingt, die zur Bildung des Wurzelbrandes führen können. Die Praxis selbst ist geneigt, den Wurzelbrand auf ungünstige Boden- und Witterungseinflüsse zurückzuführen, weshalb man auch gewisse Böden direkt als wurzelbrandige Böden bezeichnet und durch eine geeignete Behandlung und Düngung (namentlich Kalkung) des Bodens die Krankheit zu bekämpfen sucht. Schander steht auf dem Standpunkt, daß der Wurzelbrand auf Ernährungsstörungen in der jungen Keimpflanze zurückzuführen ist und daß die dadurch geschwächten Pflänzchen der Besiedelung mit Pilzen zugänglich werden. Wenn auch die Ursachen dieser Ernährungsstörungen im einzelnen noch nicht bekannt sind, so weiß man aber doch, daß die Krankheit nicht in Böden mit einer lockeren, krümeligen, genügend feuchten Oberfläche, wohl aber in festen, verkrusteten Böden auftritt. Die Bekämpfungsmaßnahmen müssen deshalb darauf gerichtet sein, der Bodenoberfläche die erwähnte günstige Struktur durch Bodenbearbeitung, Melioration und Düngung zu geben, bis zur Bodendeckung zu erhalten und die Entwicklung der Pflanzen durch dieselben Maßnahmen möglichst zu fördern.

Auch bei der Beurteilung der Herz- und Trockenfäule hat sich die frühere Ansicht, Organismen als alleinige Erreger anzusprechen, wesentlich geändert. Schander schließt sich ebenfalls der Hypothese an, daß infolge ungeeigneter Ernährung physiologische Veränderungen in der Rübe eintreten, die die Bildung der krankhaften Zustände auslösen und daß die Pilze erst auf den bereits kranken Geweben der Rüben ihre Entwicklungsbedingungen finden. Die allgemeinen Erfahrungen der Praxis sprechen sich dahin aus, daß die Krankheit dann auftritt, wenn die Rüben im Juli und August unter großer Trockenheit zu leiden haben und auch Schander hält sich an die Erfahrungen der Praxis, daß die Krankheit eine Folge sommerlicher Trockenheit ist und insbesondere auf Böden mit geringer wasserhaltender Kraft auftritt, wie dies speziell der Sommer 1909 in Posen gezeigt hat. Wenn man nun auf dem Standpunkt steht, daß die Herz- und Trockenfäule als eine Ernährungskrankheit anzusehen ist, die durch sommerliche Trockenheit bedingt wird, so ergeben sich die anzuwendenden Bekämpfungsmaßregeln von selbst. Es ist vor allem nötig, den Wasservorrat im Boden zu erhöhen und denselben im Sommer möglichst wirtschaftlich auszunutzen. Dahin gehören in erster Linie die Tiefkultur, Gründüngung, ferner rechtzeitiges Schälen der Vorfrucht, Vermeidung einer Frühjahrsfurche, frühzeitiges Schleifen und Eggen des Bodens im Frühjahr und genügende Hackkultur, damit niemals ein Verkrusten des Bodens eintritt. Die von Krüger empfohlene Übermoorung der unter Herz- und Trockenfäule leidenden Rübenäcker dürfte, abgesehen von ihrer schwierigen Durchführung, nur dann ein Resultat verheißen, wenn gut verrottete Moorerde und nicht frisches Moor verwendet werden. Starke Kalkdüngung begünstigt, namentlich, wenn sie zu spät gegeben wird, die Herz- und Trockenfäule.

Die in neuerer Zeit vielfach empfohlene Kochsalzdüngung gegen Herz- und Trockenfäule hat nach den Versuchen von Schander keinerlei günstige Wirkung gehabt.
Stift (Wien.)

Schander, R., Über Wurzelbrand, Herz- und Trockenfäule. (Deutsch. Zuckerind. Bd. 36. 1911. p. 446 uff.).

Diese Krankheiten beruhen in letzter Linie auf diversen Ernährungsstörungen der jungen Pflanzen oder der größeren Rüben. Die Widerstandsfähigkeit gegen die Mikroben wird dann herabgesetzt. Bekämpfungsmittel, die anempfohlen werden: Verbesserung der Bodenkultur durch Bearbeitung, Melioration, Hacken, Düngung oder Tiefkultur, Wahl des besten Saatgutes, größte Sorgfalt bei der Bestellung.
Matouschek (Wien.)

Günther, H. K., Keim- und Anbauversuche mit natürlichen und präparierten Rübensamen. (Centralbl. f. Zuckerind. Jg. 19. 1911. p. 1021.)

Die Präparierung der Samen erfolgte durch die Firma Wägener und Comp. in Quedlinburg. (Die Art und Weise der Präparierung ist nicht angegeben). Die präparierten Rübensamen zeigten bei den Versuchen im Keimbette eine durchaus beträchtlich höhere Keimungsenergie als die naturellen Rübensamen. Ein ebenso günstiges Verhalten haben erstere Samen auch bei den Versuchen im Freiland gezeigt, bei denen der erste Versuch einen Mehrertrag von 24 Zentnern und der zweite einen Mehrertrag von 15 Zentnern Rüben pro Morgen gebracht hat. Der imprägnierte Samen hatte auch einen früheren Auflauf als der naturelle Samen. Ferner kommt bei diesem Samen noch in Betracht, daß er seit langen Jahren bei den verschiedensten Bodenarten sich widerstandsfähig gegen die mannigfachen Schädlinge erwiesen hat. Trotz aller gegenteiligen Behauptungen der Gegner der Imprägnierungsmethode hat sie wiederum den Beweis ihrer beachtenswerten wirtschaftlichen Vorzüge erbracht.
Stift (Wien.)

Peters, L., Seitenwurzelerkrankungen der Futter- und Zuckerrüben. (Mitt. a. d. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Heft 11. 1911. p. 24.)

Bei mangelhafter Ausbildung von Futter- und Zuckerrüben zeigte sich häufig eine Erkrankung der Seitenwurzeln. Die Gewebe der erkrankten Wurzeln waren zuerst glasig, später dunkelbraun; die Wurzeln starben ab und auch die dann neugebildeten Seitenwurzeln erkrankten. Als Erreger wurden *Pythium debaryanum* und *Aphanomyces laevis* festgestellt. Es gelang nicht nur, diese Pilze aus erkrankten Seitenwurzeln heraus zu züchten, sondern auch durch Infektion von Rüben, die aus desinfiziertem Saatgut in steriler Erde unter sorgfältigem Ausschluß von Fremdinfektion gezogen waren, das Krankheitsbild hervorzurufen. Möglicherweise ist die Ernteverminderung auf von Wurzelbrand heimgesuchten Feldern zum Teil auf Seitenwurzelerkrankungen zurückzuführen.

Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Stift, A., Über das Auftreten der Blattläuse auf Zuckerrüben. (Wien. landwirtschaftl. Zeitg. Jahrg. 61. 1911. p. 576).

In der ersten Hälfte vom Juni 1911 traten in Böhmen und Mähren Blattläuse in Menge auf Zuckerrübenfeldern auf. Das Bespritzen mit 2%iger Tabak-

extraktlösung wurde als zu schwach wirkend hingestellt. Verf. mach auf folgendes aufmerksam:

1) Die Bespritzungen mit diesem Mittel, das doch zu den wirksamsten gehört, müssen rechtzeitig eingesetzt und oft wiederholt werden. Rollen sich die Blätter ein, so nützt das Spritzen allerdings wenig.

2) Im letzten Falle müssen die befallenen Blätter abgerissen und verbrannt werden.

3) Der Tabakextrakt „Thanaton“ erwies sich in Ungarn sehr gut (nach Kittlausz). Er hat dieses Mittel in flache Schüsseln mit Wasser [1:50] verdünnt gegeben und die mit Blattläusen befallenen Zweige der Samerüben eingetaucht.

4) In Ungarn bewährte sich ferner gut zur Abhaltung der Läuse die Anlage breiter Angewende von Wickefutter ringsum die Zuckerrübenfelder. Notwendig ist die Entfernung allen Unkrautes aus dem Felde, besonders der Brennessel, Klette und des Sauerampfers.

M a t o u s c h e k (Wien).

Uzel, H., Über die auf der Zuckerrübe lebenden Blattflöhe. (Zeitschr. f. Zuckerind. in Böhmen. Jg. 35. 1911. p. 625).

In Böhmen kommen am häufigsten die Arten *Phyllotreta vittula* Redtb., *Chaetocnema concinna* Marsh. und *Phyllotreta atra* F. vor. In geringerer Anzahl erscheinen *Phyllotreta nigripes* F., *Longitarsus tabidus* F. und *Psylliodes hyoscyami* L. var. *chalconera* III und vereinzelt nur treten die Arten *Phyllotreta nemorum* L., *Longitarsus longipennis* Kutsch. und *L. ochroleucus* Marsh. auf. Verf. gibt weiter eine Beschreibung der folgenden Arten: *Chalcoides Plutus* Latr., *Chaetocnema concinna* Marsh., *Ch. tibialis* III, *Psylliodes attenuatus* Koch., *P. chrysocephalus* L., *Psylliodes hyoscyami* L., *Haltica oleracea* L., *Phyllotreta sinuata* Steph., *Ph. vittula* Redtb. *Ph. nemorum* L., *Ph. atra* F., *Ph. cruciferae* Goetz *Ph. nigripes* F., *Longitarsus longipennis* Kutsch., *L. tabidus* F. und *L. ochroleucus* Marsh. Die Nährpflanze pflegt für die einzelnen Erdflöhen konstant zu sein, doch findet man manche Arten auf anderen Pflanzen, als auf denen man sie dem Namen nach suchen würde. Unter den Bäumen bewirbt die größte Anzahl die Eiche, unter den kultivierten Pflanzen stehen an erster Stelle verschiedenes Gemüse aus der Familie der Kreuzblütler. Die Käfer schaden dadurch, daß sie die Blätter siebartig durchnagen, was oft zum völligen Absterben der Pflanzen führt, und zwar besonders dann, wenn letztere noch jung und zart sind. Manchmal benagen die Käfer auch Ähren und Knospen. Die Larven leben teils frei auf der Oberfläche der Pflanzen, teils bilden sie im Innern der Blätter wellenförmig gebogene Gänge. Endlich pflegen sie Blattstiele und Pflanzenstengel durchzubeißen und richten dadurch den weitaus bedeutendsten Schaden an. Weiter führt Verf. diejenigen Bekämpfungsmittel an, die sich bei der Zuckerrübe im großen bereits bewährt haben. Auf der Zuckerrübe sind die Erdflöhe nur dann von Bedeutung, wenn sie die keimenden oder noch jungen Pflanzen befallen; älteren Pflanzen schaden die Erdflöhe weniger, einestails weil sie zu dieser Zeit besonders Kreuzblütler bevorzugen und andernteils die Zuckerrüben den ihnen zugefügten Schaden durch ihr üppiges Wachstum leicht ersetzen. Der Anbau von Zuckerrüben ist dicht neben Feldern zu vermeiden, die im Vorjahre Kopfkohl, Raps, Wasserrüben und andere von Erdflöhen bevorzugte Pflanzen getragen haben oder von He-

derich und Ackersenf durchwuchert waren. Befallene Pflanzen sind mit Schweinfurtergrün im Gemenge 1 : 50 mit Asche, Gypsmehl, Straßenstaub, Ruß usw. zu bestäuben, und zwar Nachts oder zeitig früh, so lange sich noch Tau auf den Pflanzen befindet. Bei massenhaftem Auftreten bedient man sich geeigneter Fangmaschinen, durch welche mit klebrigen Massen beschmierete Tücher über die Rübenblätter gezogen werden. Die Vernichtung von kreuzblütigem Unkraut, das zur Vermehrung der Erdflöhe sehr beiträgt, muß das ganze Jahr hindurch ausgeübt werden, und zwar nicht nur auf den Grundstücken, auf denen die Zuckerrüben angebaut sind, sondern auch in deren Umgebung. Stift (Wien.)

Stift, A., Über das Auftreten von Blattfleckenkrankheiten auf Futter- und Zuckerrüben. (Wien. Landw. Zeitung. Jg. 61. 1911. p. 832).

Von Blattfleckenkrankheiten hervorruhenden Pilzen tritt *Cercospora beticola* Sacc. alle Jahre auf, ohne daß es aber bisher zu größeren Beschädigungen gekommen wäre. Die von diesem Pilze verursachten Flecken besitzen einen Durchmesser von 1—3 mm und sind, was für sie charakteristisch ist, von einem ziemlich schmalen, olivenbräunlichen oder bräunlichpurpurnen Saum eingefasst. Im Jahre 1904 hat Bubák nun in Böhmen eine Blattfleckenkrankheit beobachtet, die durch den Pilz *Ramularia betae* Rostr., von dem bis dorthin nur Mitteilungen aus Dänemark vorlagen, hervorgerufen wurde. Die von *Ramularia* hervorgerufenen Flecken sind viel größer, nämlich 4—10 mm im Durchmesser, wobei ein weiterer Unterschied von den früheren Flecken der ist, daß bei den *Ramularia*-Flecken die rötliche Umwallung fehlt. Ref. hat seinerzeit diesen Pilz sowohl auf Zuckerrübenblättern, als auch später auf Samenfutterrüben vorgefunden. Im letzteren Falle war die Ausbreitung eine derartige, daß Ende August kein Blatt mehr gesund blieb, wie auch die Fruchthülle der Knäule vom Pilze befallen war. Im Jahre 1911 hat Ref. weiter das Auftreten von *Ramularia* auf Futterrübenfeldern beobachtet und konnte in diesem Falle ein Krankheitsbefall von 78 % festgestellt werden. Trotz dieses starken Befalles scheint aber *Ramularia* im großen und ganzen ebenso harmlos zu sein, wie *Cercospora*, da die befallenen Rüben trotz der monatelang dauernden, abnormen Dürre auf durchlässigem, tiefgründigem Boden sich ganz normal entwickelten. Allerdings milderte reichlicher Morgentau die Folgen der großen Hitze. Immerhin sind aber die beiden Pilze im Auge zu behalten, da es doch möglich erscheint, daß ihr Auftreten einmal einen ganz beträchtlichen Schaden verursachen könnte. Als radikales Bekämpfungsmittel empfiehlt sich das Entfernen der Blätter. Bei der Bespritzung der Blätter mit einer 2 %igen Kupfervitriolbrühe ist der Erfolg noch nicht sichergestellt.

Zu diesen Ausführungen bemerkt O. Fallada (Wien. Landw. Zeitg. Jg. 61. 1911. p. 877), daß die Warnung Stifts berechtigt ist, da er vor einigen Jahren aus Italien Rübenblätter erhielt, die einen ungewöhnlich starken Befall von *Cercospora* aufwiesen. Die Krankheit trat Mitte Juli auf und die Blätter waren in 8—14 Tagen ausnahmslos verloren; dasselbe Schicksal teilten die nachwachsenden Blätter. Fallada empfiehlt nun, da ein Bespritzen mit einer 2 %igen Kupfervitriolbrühe nicht wirkte, eine Kupferkalkbrühe anzuwenden, und zwar bei einem Intervall von je 10 Tagen in einer steigenden Konzentration von 0,5 %—2 %. Ein ähnliches Verfahren hat sich bereits in Nordamerika erfolgreich erwiesen und versagte auch hier, da

im nächsten Jahre die *Cercospora* Krankheit auf ein ganz geringes Maß eingeschränkt werden konnte, nicht. Bemerkenswert ist, daß in der betreffenden Gegend die Krankheit regelmäßig jedes Jahr auftrat und sich selbst auf Rübenfeldern einstellte, wo 5—6 Jahre vorher der Rübenbau ausgesetzt war.

Autoreferat.

Montemartini, L., *La fioritura precoce delle barbabietole*. Pavia. 1911. 2 pp.)

Briem versuchte (1903) die frühzeitige Blütenbildung der Zuckerrübe durch übermäßige Zuckeranhäufung infolge starker Temperaturniedrigungen im Frühling zu erklären. Nach Versuchen des Verf. soll als Folge der Temperaturniedrigung eine überschüssige Phosphor- im Vergleich zur Stickstoffaufnahme erfolgen.

Pantanelli (Roma.)

Némec, B., *Die Rübennematode*. (Österr.-Ungar. Zeitschr. f. Zuckerind. Bd. 40. 1911. p. 422 uff.)

Verf. beobachtete eigenartige Tropfen, die den Verlauf der Gefäßbündel unterbrechen. Daher treten starke Störungen der Nährstofftransportbahnen auf. *Heterodera radiculicola* verursacht nicht diese Schäden, die *H. Schachtii* hervorbringt.

Matouschek (Wien.)

Némec, B., *Über die Nematodenkrankheit der Zuckerrübe*. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 21. 1911. p. 1—10.)

1) *Heterodera Schachtii* besitzt, wie *H. radiculicola*, in der Mundhöhlung einen mächtigen Stachel. Sie verwendet ihn, um in die Wurzel einzudringen; gelangt sie an das Gefäßbündel, so wird der Stachel nicht mehr gebraucht, denn die an die Mundöffnung angrenzenden Riesenzellen sind ganz unversehrt. Da die Zellmembranen keine Sporen haben, so ist es ausgeschlossen, daß sich das Tier durch einfaches Saugen der Zellsubstanz ernähren könnte. Verf. vermutet, daß die Riesenzellen nach Art einer Drüse oder eines Nektariums wirken, daß sie also bestimmte Stoffe sezernieren, welche dann der Wurm einsaugt. Damit läßt sich der drüsige zytologische Charakter der Riesenzellen in Verbindung bringen und auch das Auftreten von fadenförmigen Mitochondrien in den der Mundöffnung des Wurmes anliegenden Zellen. Erstere treten ja an Stellen einer intensiven Stoffwechseltätigkeit auf z. B. in Nektarien (nach Schniewind-Thies). Der Wurm mag also, nachdem er die Gefäßbündelelemente erreicht hat, einen Stoff zu sezernieren, der die Zellen reizt heranzuwachsen, reiches Zytoplasma zu bilden, teilweise die Zellwände aufzulösen und bestimmte Stoffe zu sezernieren. Diese saugt dann der Wurm als Nahrung auf. Entweder diese andauernde Entfernung der Sekrete oder die dauernde Einwirkung eines vom Wurm sezernierten Stoffes bewirken, daß die Riesenzellen als Nektarien fungieren, so lange der Wurm an der Wurzel saugt. Denn stirbt er ab, so verdicken die Riesenzellen noch ihre Wände, werden inhaltsärmer und sterben ab. Das Gefäßbündel wird an der Infektionsstelle nur wenig dicker. Eine starke Zellvermehrung und -Vergrößerung, wie sie in den Gallen der *Heterodera radiculicola* eintritt, kommt bei *H. Schachtii* nicht zustande. Die Riesenzellen entstehen da meist durch Zellverschmelzung. Durch das Absterben der Riesenzellen wird der Eintritt in die Pflanzen diversen Mikroorganismen ermöglicht. Verf. beschäftigt sich mit der Entstehung und der Anatomie der Riesenzellen genau.

2) Es wird ein Bild, das nematodenkranke Zuckerrüben bieten, ent-

worfen: Die andauernde Neubildung von Wurzeln erschöpft die Rübe. Der Rübenkörper selbst und die älteren Teile der Seitenwurzeln, welche keine Epidermis und äußere Rinde mehr besitzen, sind zu einer erfolgreichen Absorption nicht geeignet. Durch die Riesenzellen wird das Gefäßbündel in den infizierten Seitenwurzeln unterbrochen. Das Vergilben und Abwelken der Blätter wird der starken Nahrungsentziehung durch die Würmer zugeschrieben; schuld daran ist aber die mangelhafte Versorgung der Pflanze mit mineralischen Nährstoffen. Die Versorgung der Pflanze mit Wasser ist infolge der anatomischen Veränderung der Gefäßbündel der Absorptionswurzeln recht ungenügend; daher welken nematodenkranke Rüben bei Trockenheit und Hitze leichter, als gesunde. Irrelevant ist der Verlust an Nährstoffen, welche der Pflanze die Würmer selbst entziehen. Das in den Riesenzellen sich bildende Zytoplasma ist für die Pflanze verloren. All das könnte aber wohl der große Organismus der Rübe verschmerzen, wenn es nicht durch die kontinuierliche Seitenwurzelbildung zu einer tiefen Ernährungshemmung und Erschöpfung käme.

M a t o u s c h e k (Wien).

Fuchs, Oskar, Beiträge zur Biologie des Rüben-nematoden, *Heterodera Schachtii*. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswes. in Österr. Jg. 14. 1911. p. 923.)

Da es noch immer kein Mittel zur erfolgreichen Bekämpfung dieses Schädlings gibt und hier nur ein gründliches Studium seiner Lebensbedingungen zum Ziele führen kann, so hat sich Verf. mit der Biologie des Rüben-nematoden beschäftigt und zwar mit der Ziste, jenen Dauerformen des Wurmes, die es möglich machen, daß er ohne Pflanzennahrung den Winter überdauert, und die in jenen Fällen, wo auch in der warmen Jahreszeit die passenden Nährpflanzen fehlen, ihn durch Jahre hindurch im Boden erhalten, bis endlich wieder die geeigneten Nährpflanzen im Boden zu finden sind, die es ermöglichen, daß neue Generationen und neue Dauerformen gebildet werden. Diese Dauerform ist die braune Ziste, die der Franzose J. C h a t i n als erster beschrieben, und deren große Bedeutung er richtig eingeschätzt hat. Es entsteht nicht aus jedem Weibchen eine Ziste, so daß dann die Ziste einfach ein abgestorbenes Weibchen wäre, wie alle früheren Forscher vertreten haben. Im Gegenteil, es müssen in dem noch lebenden Weibchen ganz bestimmte Veränderungen vor sich gehen, die die Bildung der Ziste anbahnen, während alle jene Weibchen, die diese Veränderung nicht zeigen, nach ihrem Absterben von der Wurzel abfallen. Die freiwerdenden Larven dieser Weibchen (auch die Eier) gehen aber im Herbst, bei der kalten Witterung und ungünstigen Lebensbedingungen zugrunde, da sie frei in der Erde den Winter nicht überdauern können. Die Bildung der braunen Ziste aus dem Weibchen geht in ganz eigener Weise vor sich, indem das Weibchen abstirbt und von einer braunen Haut (der Ziste) umgeben ist. Diese braune Ziste zeigt keinerlei Lebenserscheinungen, sie ist nichts anderes als eine schützende Hülle, die den Einflüssen der Witterung lange Zeit trotzen kann und ihren Inhalt, die Eier, auf diese Weise durch Jahre hindurch lebend und entwicklungsfähig erhält. Solche Zisten werden, wenn freilich in viel geringerer Anzahl, auch im Sommer gebildet, wobei Temperaturverhältnisse eine maßgebende Rolle spielen. Kälte vermag den Zisten und deren Inhalt nicht zu schaden, eher ist ihnen mit künstlicher Wärme beizukommen. Diesbezüglich hat Verf. genaue Untersuchungen angestellt, um vielleicht darin ein Mittel zu finden, um den Rüben-nematoden mit Erfolg zu bekämpfen. Wie nun die Versuche ergeben haben, so genügt eine Temperatur-

erhöhung des Bodens auf 63° C, um die Zisten samt ihrem Inhalt abzutöten. Was die Frage anbelangt, wie alt denn überhaupt Zisten werden, so steht fest, daß noch nach 5 Jahren in einem Boden, der in der Zwischenzeit nicht bebaut und von dem auch jedes Unkraut sorgfältig ferngehalten war, immer eine beträchtliche Zahl Eier enthaltende Zisten vorhanden sind, die bei günstigen Temperaturen die Larven dann entlassen, die angebaute Nährpflanzen sofort befallen. Verf. glaubt annehmen zu können, daß mindestens ein Zeitraum von 8 Jahren nötig ist, um durch Fernhalten von Nährpflanzen die Rüben nematoden eines Feldes zu vernichten. Aus seinen weiteren Versuchen glaubt Verf. ferner annehmen zu können, daß die Larven die Zisten nach und nach verlassen, je nachdem sie ihre Reife erlangen und die Wärme- und Feuchtigkeitsverhältnisse entsprechende sind; die Anwesenheit von Pflanzen scheint aber kein maßgebender Faktor für das Auskriechen der Larven zu sein. Besonders beachtenswert ist es aber, daß die Larven ganz beträchtliche Strecken zurückzulegen imstande sind und zwar können sie bei günstigen Wärme- und Feuchtigkeitsverhältnissen in nur 2 Wochen eine Strecke von mehr als 3 Meter zurücklegen. Bei diesen Versuchen war der Transport durch fließendes Wasser, sowie auch jede Verschleppung sorgfältig vermieden. Es können die Nematoden, bezw. die Larven, selbsttätig in einem Jahre bei 5—6 Generationen um 15—24 m weit vordringen, und zwar gegen die Richtung des strömenden Wassers, nur durch eigene Kraft. Dies ergibt sich aus Versuchen, bei denen die Wanderung in Holzkisten beobachtet wurde. In der freien Natur liegt die Sachlage noch viel günstiger für die Verbreitung der Larven, da hier das abfließende Wasser einen nicht zu unterschätzenden Transportfaktor abgibt, der die Larven auf ihrer Wanderung ganz bedeutend unterstützen kann. Was das mitunter beobachtete starke Auftreten der Rüben nematoden auf Hafer anbetrifft, so kann man im allgemeinen daran festhalten, daß im Ackerboden die Rüben nematoden in Mischformen auftreten, die befähigt sind, sowohl Rüben als Hafer als Nährpflanzen zu verwenden, die aber, falls ihnen fortgesetzt nur eine und dieselbe Pflanzenspezies zur Nahrung dient, sich an diese allmählich so gewöhnen und sich an sie anpassen, sodaß die Bildung einer eigenen Rasse in diesem Falle wahrscheinlich wird. Was schließlich die Bekämpfung der Rüben nematoden anbetrifft, so werden durch die K ü h n sche Fangpflanzenmethode nur die auf der Wanderung befindlichen Larven vertilgt, während die Zisten aber im Boden bleiben und im nächsten Jahr von neuem das Feld verseuchen. In wenigen Jahren ist dann die Wirkung der Fangpflanzen verschwunden, abgesehen davon, daß die Methode, wenn man den richtigen Zeitpunkt der Vertilgung der Fangpflanzen versäumt, statt einer Verminderung ein Vermehrung der Rüben nematoden herbeiführt. Da auch die chemischen Mittel bis jetzt keinen Erfolg brachten, so bleibt nur als einzige Methode übrig, die Nematode durch Erhitzen des Erdreiches auf 63° C zu vernichten. Die Tiefe, in der das Erhitzen geschehen muß, ist im allgemeinen die, bis zu welcher eine ausgewachsene Rübe in die Erde eindringt. Da aber die Erhitzung einer so bedeutenden Erdmasse mit großen Bodenbewegungen verbunden ist und daher sehr teuer kommt, so ist es die Aufgabe der exakten Forschung, zu konstatieren, ob eine solche Erhitzung des Bodens durch gewöhnliches Bodenbrennen, vielleicht ähnlich wie dies K ü h n seinerzeit versuchte, oder auf irgend eine andere Art mit Anwendung von Maschinen zu erzielen ist, wobei es sich lediglich darum handeln wird, mit einem möglichst geringen Aufwand von Arbeit und Wärme die obere Bodenschicht auf 63° C zu erhitzen. S t i f t (Wien.)

Fulmek, Leopold, Die Rüben nematode (*Heterodera Schachtii* Schm.), ihre Naturgeschichte und Bekämpfung. (Monatsh. Landwirtsch. Jg. 4. 1911. p. 268.)

Verf. gibt für den praktischen Landwirt eine sehr instruktives Bild über die Entwicklung der Rüben nematoden vom Ei bis zum geschlechtsreifem Tiere, hebt diejenigen Mittel hervor, die zur indirekten Bekämpfung des Schädling sich bewährt haben oder Beachtung verdienen und schildert schließlich die direkten Bekämpfungsmittel mit besonderer eingehender Hervorhebung der Kühn'schen Fangpflanzenmethode, die nach dem derzeitigen Stande der Kenntnisse als dasjenige Verfahren anzusprechen ist, „das auf exakten Grundlagen aufgebaut im Großbetriebe als bestes Auskunftsmittel tatsächlich einen ausreichenden Erfolg bei geringstem Kostenaufwand sichert.“
Stift (Wien.)

Spisar, Karl, Die Flachsseide und die Zuckerrübe. (Zeitschr. f. Zuckerind. in Böhmen. Jg. 35. 1911. p. 639.)

Vor Jahren hat Stift das Auftreten der gemeinen Seide, *Cuscuta europaea* auf Zuckerrüben studiert und dabei gefunden, daß dieselbe unter Umständen ein sehr unangenehmer Schädling werden kann, und zwar dadurch, weil die befallenen Pflanzen erheblich in ihrer Entwicklung und dem Zuckergehalte leiden. Auf Grund seiner Beobachtungen sprach sich Stift dahin aus, daß die gemeine Seide eventuell und zwar bei größerem Auftreten wohl geeignet wäre, einen ganz beachtenswerten Schaden an Zuckerrüben hervorzurufen. Das Auftreten von Kleeseide auf Zuckerrüben beobachtete auch Peglion, und konnte speziell beim Auftreten von *Cuscuta Gronovii* finden, daß dieser Schädling für die Zuckerrübe gefährlich werden kann. Verf. hat nun mit *Cuscuta Gronovii* zahlreiche Versuche ausgeführt, wobei er zu demselben Resultat wie Peglion gekommen ist. Diese Seide ist in bezug auf die Auswahl der Nährpflanzen nicht wählerisch und befällt zahlreiche, sowohl wildwachsende als auch kultivierte Pflanzenarten. Futter- und Zuckerrüben werden von diesem Parasiten, der zu den größten Seidenarten gehört sehr energisch befallen und ist dabei der Entwicklungszustand der befallenen Pflanzen ganz gleichgültig. Beachtenswert ist, daß auch die Samenrüben vor dieser aus Nordamerika stammenden Seide nicht geschützt sind. Verf. beschreibt nun eingehend die Entwicklung der Seide auf der Zuckerrübe. Der Parasit beschränkt sich nicht auf eine Pflanze, sondern befällt durch die sich zahlreich bildenden Nebenachsen immer mehrerer Zuckerrübenpflanzen. Befallene Rübenpflanzen haben nur selten wenige gesunde Blätter, da die meisten Blätter von der Seide umschlungen sind und absterben. Manchmal kommt es vor, wie auch Stift schon bei der gemeinen Seide beobachtet hat, daß die befallene Pflanze sich entweder nur kümmerlich entwickelt oder überhaupt abstirbt. Die Vermehrung der Seide ist eine sehr leichte und ihre Verbreitung unter Umständen eine sehr große. Die Hauptverbreitungsart erfolgt wohl durch den Samen, doch soll auch die vegetative Verbreitung und Vermehrung nicht unterschätzt werden. Die Samen der Seide können durch viele Jahre ihre Keimfähigkeit bewahren, um unter günstigen Bedingungen zum Keimen erweckt zu werden. Die Keimpflanze ist unter Umständen imstande, ohne eine Nährpflanze, also auf eigene Kosten, über 30 Tage zu leben. *Cuscuta Gronovii* kommt in Deutschland sehr häufig vor, in Österreich jedoch nur hier und da an Flußufern an Weiden und Pappeln, häufiger

an Gartenzäunen, wohin sie mit verschiedenen anderen Samen verschleppt worden ist. Sollten Zuckerrüben befallen werden, so sind die befallenen Pflanzenteile vorsichtig abzutrennen und zu verbrennen. Eventuell sind die ganzen Rüben aus dem Felde zu nehmen und zu vernichten. Hat sich die Seide auf Blütenachsen der Samenrüben oder einjähriger Rüben eingenistet, so müssen die befallenen Teile abgeschnitten werden; ein bloßes Abtrennen der Seitenachsen der Seide von der Rübenpflanze hat keinen Zweck, da dies nicht vollständig möglich ist und sich der Parasit dann weiter entwickelt.

Stift (Wien).

Wollenweber, H. W. und Schlumberger, O., Infektionsversuche mit kartoffelbewohnenden Pilzen. (Mitt. a. d. K. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Heft 11. 1911. p. 15.)

Mit *Verticillium alboatrum*, *Fusarium solani*, *F. coeruleum*, *F. orthoceras*, *F. subulatum* und *F. discolor* wurden Kartoffelknollen geimpft, indem Konidienaufschwemmungen mit der Pravaz-Spritze eingespritzt wurden. Die Knollen wurden zum Teil direkt nach der Impfung ausgelegt, teils lagerten sie vor dem Auslegen noch 14 Tage im Keller; ein kleiner Teil endlich wurde noch länger im Keller aufbewahrt. „Die Sporen von *F. coeruleum* und *F. solani* keimten teilweise in der Knolle aus und verursachten in einzelnen Fällen kleine Faulstellen, die sich jedoch nicht weiter ausbreiteten und in keinem Falle zu einer Fäulnis der ganzen Knolle führten.“ Die Versuche mit den anderen Pilzen verliefen negativ. — Die Impfungen von Kartoffelstengeln und Wurzeln mit einigen der genannten Pilze hatten kein einwandfreies Ergebnis, da in sehr vielen Pflanzen, auch in den mit Fusarien geimpften, *Verticillium alboatrum* auftrat.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Brick, C., Über Kartoffelkrankheiten. (Verhandl. d. naturwiss. Ver. Hamburg. 3. Folge. Bd. 18. 1911. Jg. 53—54.)

Uns interessieren nur folgende Angaben:

1. In Deutschland hat die Dürffleckenkrankheit, hervorgerufen durch *Alternaria solani* Sor., und die Kräuselkrankheit keine große Bedeutung.

2. Die Blattrollkrankheit ist wohl auf ein in den Gefäßen des Stengels und der Knolle wachsendes *Fusarium* zurückzuführen.

3. In England und dessen Kolonien wird die durch *Chrysophlyctis endobiotica* Schilb. erzeugte Krebskrankheit sehr gefürchtet. Neuerdings trat sie auch in Neufundland auf, in Deutschland nur in Westfalen (Arnsberg), in Oberschlesien (Pleß) und in Düsseldorf.

Die anderen Krankheiten werden insgesamt aufgezählt.

Matouschek (Wien).

Pethybridge, Geo. H., Investigations on potato diseases. Second report. (Dep. of Agric. and Techn. Instr. f. Ireland Journ. Vol. 11. 1911. p. 417.)

Verf. teilt in der vorliegenden Arbeit verschiedene Beobachtungen über Kartoffelkrankheiten und ihre Bekämpfung mit. — In den Küstengegenden wird die Bordeauxbrühe häufig mit Seewasser hergestellt; vergleichende Versuche zeigten, daß eine solche Brühe zur Bekämpfung der *Phytophthora infestans* nicht so geeignet ist, wie die aus Süßwasser hergestellte. — Eine als „Yellowing blight“ bezeichnete Krankheit führt Verf. auf zu große Feuchtigkeit zurück; er konnte dieselbe an Kartoffeln her-

vorrufen, die in Kulturgefäßen ohne Wasserabfluß gezogen wurden. — Gegen *Sclerotinia sclerotiorum* waren Bespritzungen mit Schwefeleber von einigem Erfolg. — Eine Stengelfäule wird durch *Bacillus melanogenes* hervorgerufen; Infektionsversuche fielen positiv aus. Die Krankheit wird mit dem Saatgut verschleppt, da der Bazillus Knollen infizieren kann, ohne sie bei normaler kühler Aufbewahrung zu zerstören. — Kartoffelsorten, die gegen *Spongospora subterranea* immun sind, konnten nicht gefunden werden. Durch Kalk wird das Auftreten des *Spongospora*-Schorfs sehr begünstigt. Es gelang nicht, durch verschiedene Bodendesinfektionsmittel die Krankheit zu bekämpfen, dagegen erwies sich eine dreistündige Saatgutbehandlung mit 1-proz. Kupfervitriol als sehr vorteilhaft. Möglicherweise kann der *Spongospora*-Schorf durch Dünger verschleppt werden; eine Parzelle wurde mit dem Mist eines Schweines gedüngt, das mit *Spongospora*-Kartoffeln gefüttert worden war. Auf dieser Parzelle erkrankten 26,8% Kartoffeln, während auf der Kontrollparzelle nur 11% erkrankten. — *Rhizoctonia solani* trat häufig zusammen mit *Hypochnus solani* auf, der Zusammenhang des *Hypochnus*-Mycels mit den Sclerotien konnte beobachtet werden. In Kultur konnte der Zusammenhang beider Pilze nicht nachgewiesen werden; die *Hypochnus*-sporen keimten zwar reichlich, doch ging das Mycel bald zugrunde. — Die Kräuselkrankheit hält der Verf. für nicht parasitär, die Blattrollkrankheit auf Grund einiger Versuche für parasitär; als wahrscheinlichen Erreger der Blattrollkrankheit betrachtet Verf. *Verticillium albo-atrum*.

Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Riehm, E., Über den Zusammenhang zwischen *Rhizoctonia solani* Kühn und *Hypochnus solani* Prill. et Del. (Mitt. a. d. K. Biol. Anst. Heft 11. 1911. p. 23.)

Aus Mycel von *Hypochnus solani* entwickelte sich auf einem Agar-Nährboden eine Reinkultur von *Rhizoctonia solani*. Damit gewinnt die bisher angezweifelte Behauptung Rolfs von der Zusammengehörigkeit dieser Pilze an Wahrscheinlichkeit.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Pethybridge, George, H., Considerations and experiments on the supposed infection of the potato crop with the blight fungus (*Phytophthora infestans*) by means of mycelium derived directly from the planted tubers. (The Scien. Proc. of the Roy. Dublin Soc. Vol. 13. 1911. No. 2.)

Oosporen von *Phytophthora infestans* sind bisher einwandfrei noch nicht nachgewiesen; die Überwinterung des Pilzes ist nach allgemeiner Auffassung auch ohne Oosporen möglich, denn das *Phytophthora*-Mycel ist ja imstande, in der Knolle zu überwintern. Über die Art und Weise wie im Juli oder August das Laub der Kartoffelstauden wieder infiziert wird, ist man sich noch nicht ganz im klaren. Verf. versucht diese Frage zu lösen. Zwischen der *Phytophthora* und der Kartoffelknolle besteht nach Pethybridge der bekannte Kampf; die Pflanze sucht dem Pilz zu entrinnen, was auch darin zum Ausdruck kommt, daß die *Phytophthora*-kranken Knollen viel früher treiben als die gesunden. Unterliegt die Knolle dem Pilz, so wird sie entweder schon vor dem Auslegen im Winter zerstört, oder sie geht auf dem Felde zu Grunde ohne überirdische Triebe gebildet zu haben, oder endlich, sie bildet schwächliche oberirdische

Triebe, in die der Pilz aus der Knolle hineinwächst und die dann zerstört werden. Gewinnt die Pflanze die Oberhand, so bildet sie völlig gesunde Triebe. Die Möglichkeit, daß die *Phytophthora* an den Knollen im Boden Konidien bildet, die dann beim Hacken an die Oberfläche kommen, hält Verf. nicht für wahrscheinlich. Dagegen sind für eine Infektion von Kartoffelfeldern im Sommer die Knollen gefährlich, deren schwächliche Triebe noch von dem Pilz erreicht und zerstört werden. Daß der Pilz in den Knollen im Ruhezustand lebt und erst im Sommer bei feuchtem, warmem Wetter aus den Knollen in die schon ausgebildeten Triebe emporwächst, wie *Masse* annimmt, hält Verf. für unwahrscheinlich. Er unterwirft die Versuche, die *Masse* zur Stütze seiner Theorie ausgeführt hat, einer Kritik und kommt auf Grund dieser Kritik und einer exakten Nachprüfung der *Masse*-schen Versuche zu dem Ergebnis, daß *Masse*'s Theorie äußerst unwahrscheinlich ist. Bei einem Topfversuch konnte Verf. in einem Falle beobachten, daß ein junger Trieb einer phytophthorakranken Kartoffel allmählich von unten herauf erkrankte und daß an ihm *Phytophthora*-Konidien entstanden; er glaubt, daß dies auch im Freien vorkommt und daß auf diese Weise der Pilz aus den Knollen an die Oberfläche kommt.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Störmer, K., Wovon hängt das Auftreten der Kartoffelkrankheiten ab und mit welchen Maßnahmen bekämpft man sie? (Deutsche Landw. Presse. Jg. 38. 1910. p. 244.)

Das Auftreten der Kartoffelkrankheiten hängt von den 3 Faktoren: Witterungseinflüssen, Bodeneinflüssen und Eigenschaften, die in der Kartoffel selbst zufolge ihres Sortencharakters und ihrer Herkunft liegen, ab. Als Saatkartoffel wird die Kartoffel in ihrem Werte ausschlaggebend durch die Witterungsverhältnisse des Jahres, in welchem die Saatkartoffel gewachsen ist, beeinflußt. Die Herbstwitterung übt einen unzweifelhaften Einfluß aus, der vermutlich darin besteht, daß bei feuchter Witterung zuviel Salze des Stickstoffes, des Kalis, des Natrons u. a. aufgenommen und nicht genügend verarbeitet werden (Auftreten der Blattrollkrankheit). Es ist daher eine Überdüngung zu vermeiden. Wie die Witterungseinflüsse in einer Periode von ungefähr 30—35 Jahren gesetzmäßig wechseln, so besteht die Wahrscheinlichkeit, daß in derselben Periode auch das starke Auftreten von Kartoffelkrankheiten schwankt, wobei allerdings nicht zu vergessen ist, daß einzelne Jahre scheinbar regellos das stärkere oder geringere Auftreten von Kartoffelkrankheiten zeigen und auch die örtlichen Witterungsverhältnisse außerordentlich verschieden sein können. Von größerer Bedeutung für das Wachstum und die Gesunderhaltung der Kartoffeln sind die Bodeneinflüsse. Welche Bodeneigenschaften ausschlaggebend sind und in welcher Weise sie die Kartoffeln beeinflussen, ist noch nicht genau bekannt. Da die verschiedenen Sorten verschiedene Ansprüche an den Boden stellen, so eignet sich auch nicht jede Sorte für jeden Boden. Jede Kartoffel zeigt neben Sorteneigenschaften (Reifezeit, Stärkegehalt, Ansprüche an Boden und Klima, Widerstandsfähigkeit gegen Krankheiten usw.) auch Herkunftseigenschaften, die von derselben Bedeutung, namentlich für den Ertrag sind, wie erstere. Neben den bekannten Sorteneigenschaften entscheiden die in der Regel unbekannten Herkunftseigenschaften (hervorgerufen durch Witterungs-, Boden- und Kultureinflüsse) darüber, wie sich eine Kartoffel in der Miete hält, den Transport verträgt und wie sie sich beim Nachbau bewährt. Verfehlte Kulturmaßnahmen (schlechte Überwinterung, Überdüngung mit Chile-

salpeter oder Kalisalzen, Kalkmangel u. a.) führen auch bei günstigen Boden- und Witterungsverhältnissen zu einer schnelleren Degeneration und zu einem stärkeren Auftreten von Krankheiten. Die vorstehend mitgeteilten Einflüsse sind bedeutungsvoll bei dem Auftreten jeder Krankheit, sie äußern sich aber doch je nach der speziellen Krankheitsform in verschiedener Weise, wie das Verf. bei der Krautfäule, Knollenfäule und dem Abbau der Kartoffeln des näheren erörtert. Im Gegensatz zum Sortencharakter, der sich sicher vererbt und als stabile Eigenschaft bezeichnet werden muß, sind aber der Abbau und seine Begleiterscheinungen, insbesondere die Blattrollkrankheit, nur labile Eigenschaften der Knolle, welche der Beeinflussung zugänglich sind. In der Verwendung eines gesunden, wuchskräftigen, von Abbauerscheinungen freien Saatgutes liegt der wirksamste Schutz gegen Kartoffelkrankheiten und Mißernten. Zur Gewinnung eines solchen Saatgutes sind nur Kartoffeln von gesunder Herkunft zu verwenden und die Saatkartoffeln sind nur mit Stallmist und Phosphorsäure zu düngen, dann im Herbst möglichst lang im Boden zu lassen und kühl und trocken zu überwintern. Zu bevorzugen sind bei der Aussaat mittelgroße Knollen, unter Vermeidung der Auslegung kranker Knollen. Ein Zerschneiden der Saatknohlen beim Auslegen ist zu vermeiden.

Stift (Wien).

Hiltner, Welches sind die Ursachen der geringen Kartoffelernte 1910 und welche Maßnahmen sind in Zukunft vorzusehen? (Hess. landw. Zeitschr. 1911. Nr. 15 u. 16).

Verf. macht gelegentlich eines Vortrags zunächst auf seine in mehrjährigen Versuchen bestätigte Beobachtung aufmerksam, daß es Gegenden und Bodenarten gibt, die für die blattrollkranken Kartoffeln gewissermaßen Sanatorien darstellen. Er begründet dann eingehend die von ihm von Anfang an vertretene Ansicht, daß es sich bei der Blattrollkrankheit nicht um eine Pilzerkrankung, sondern um eine Ernährungsstörung handelt. Das bedrohliche Auftreten dieser Kartoffelkrankheit ist wahrscheinlich durch die große Trockenheit der Sommer 1904 und 1905 veranlaßt worden. Infolge des Wassermangels ist eine Notreife der Kartoffeln eingetreten und diese, nicht etwa mangelnde Reife an sich, war die Ursache der Krankheit. Verf. steht nun auf dem Standpunkt, daß übermäßige oder unzweckmäßig verabreichte Düngungen mit Kalisalzen und anderen Salzen, besonders zu Zeiten großer Trockenheit, zum Eindringen zu konzentrierter Salzlösungen in die Kartoffelpflanze und damit zu schweren Ernährungsstörungen Veranlassung geben können. Solche in den Gefäßen der Pflanzen sich anhäufenden Salzlösungen verhindern das weitere Emporsteigen des Wassers in die darüber liegenden Pflanzenteile und damit die Versorgung dieser Teile mit den im Wasser gelösten Nährstoffen. Die angesammelten Kalisalze, besonders das Kaliumphosphat, bilden, wie Versuche zeigten, einen vorzüglichen Nährboden für Fusarien und andere Pilze. Die Annahme ist daher wohl berechtigt, daß die Anhäufung der Salze als eigentliche Ursache der krankhaften Störung anzusehen ist, während das Auftreten des Pilzes erst eine sekundäre Erscheinung darstellt.

Aus solchen Erwägungen heraus ist es auch erklärlich, daß die blattrollkranken Pflanzen auf manchen Böden gesunden, beispielsweise, wie Störmer zeigte, auf ganz armen Sandböden, welchen größere Mengen von Salzen durch Düngung nicht zugeführt wurden.

Verf. weist des Weiteren auf eine Reihe von Maßnahmen hin, die der Landwirt ergreifen kann, um von vornherein gesunde Knollen zu gewinnen.

Zunächst ist der Bodenbearbeitung und der Art der Düngung die größte Beachtung zu schenken, besonders die Gründüngung scheint sehr günstig auf den Gesundheitszustand der nachfolgenden Kartoffeln zu wirken. Ferner sind die Sorten und besonders die Herkunft der Kartoffeln von größter Bedeutung. Das Jahr 1910 hat gezeigt, daß blattrollkrankes Saatgut zu Mißernten führen kann, nicht nur bei zu starker Trockenheit des Bodens, sondern fast noch mehr bei langandauerndem Regen zur Zeit der Knollenausbildung. Es erklärt sich dies aus der durch starke Regenperioden geschwächten Assimilations-tätigkeit der Blätter. Als Vorbeugungsmittel ist wiederholte Bespritzung mit 2 bis 4proz. Kalisalzlösungen mit Erfolg in Anwendung gebracht worden. Auch der Krautfäule, auf deren Bekämpfung Verf. noch kurz eingeht, wird wahrscheinlich durch eine solche Behandlung vorbeugend begegnet werden können.

V o g e l (Bromberg).

Baneroft, Keith, A bacterial disease of potato and tomato. (Agric. Bull. of the Straits a. Federated Malay States. Vol. 9. 1910. p. 478—480.)

In Perak tritt die Bakteriose der Kartoffeln, verursacht durch *Bacillus Solanacearum* E. Smith, häufig auf. In Kuala Lumpur wurde sie auf Tomaten angetroffen. Die Krankheit wird beschrieben, die üblichen Bekämpfungsmaßregeln werden angegeben.

H e r t e r (Tegel).

Appel, O., Zur Kenntnis der Bakterienfäule der Kartoffel. (Mitt. a. d. kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Heft 11. 1911. p. 12.)

Bacterium xanthochlorum Schuster, ein fluoreszierendes Bacterium, ruft eine Naßfäule von Kartoffelknollen hervor. Dasselbe Bacterium vermag, wie Infektionsversuche zeigten, eine Schwarzbeinigkeit von *Vicia Faba* und eine Stengelfäule von *Lupinus nanus* hervorzurufen. „Versuche, aus *Bacterium fluorescens*, das bei höheren Temperaturen (35°) pathogene Eigenschaften annimmt, eine dem *Bacterium xanthochlorum* entsprechende Rasse zu züchten, gelangen nicht.“

R i e h m (Gr.-Lichterfelde).

Köck, Gustav, Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswes. in Österreich. Jg. 14. 1911. p. 737.)

Verf. berichtet in Kürze über den derzeitigen Stand der Kenntnisse über das Wesen der Blattrollkrankheit, eine Krankheit, deren praktische Bedeutung von einzelnen Forschern zumeist überschätzt, von vielen Forschern und fast allen Praktikern gewaltig unterschätzt wurde. Wenn auch die anfangs gehegten Befürchtungen nicht in dem erwarteten Umfange eingetreten sind, so ist aber die Blattrollkrankheit als eine Krankheit zu beobachten, die unter Umständen wenigstens lokal große Schädigungen hervorrufen kann. Über das Wesen der Krankheit lassen sich im allgemeinen zwei wohl von einander zu unterscheidende Gruppen aufstellen. Die eine Gruppe hält die Krankheit für nicht parasitär und macht für deren Auftreten ungünstige äußere Vegetationsbedingungen, Abbau, Degeneration usw. verantwortlich, während die andere Gruppe, der auch Verf. sich anschließt, auf dem schon seinerzeit von Appel vertretenen Standpunkt steht, daß es sich hier um eine parasitäre und zwar um eine pilzparasitäre Krankheit handelt. Als das bis jetzt einzig sichere Erkennungszeichen der Krankheit muß das sehr

charakteristische Einrollen der Blätter, das mit Verfärbungen am Grunde derselben einhergeht, bezeichnet werden. Dieses Rollen unterscheidet sich sehr wohl von dem Gekräuseltsein der Blätter beim Auftreten der Kräuselkrankheit und sind beide Krankheiten auch sehr streng voneinander zu trennen. Wichtig ist die Tatsache, daß es nur durch die Besichtigung der Kartoffeln auf dem Felde zu entscheiden möglich ist, ob die Kartoffeln blattrollkrank sind oder nicht, da es nämlich nicht möglich ist, auf Grund der Untersuchung eingesandter Knollen ein solches Urteil zu fällen. Die Verfärbung des Gefäßbündels der Knolle, seinerzeit von Appel als Symptom der Blattrollkrankheit angegeben, hat sich nach Verf.s Erfahrungen als kein integrierendes Merkmal der Krankheit ergeben. Die Krankheit ist durch das Saatgut übertragbar, wenn es allerdings auch Fälle gibt, wo Knollen einer typisch blattrollkranken Pflanze keine blattrollkranken Pflanzen liefern. Auch der Boden kommt als Überträger der Krankheit in Betracht. Die Resultate der Untersuchungen und Versuche, die Verf. im Jahre 1910 angestellt hat, geben ihm eine Stütze für die schon von Appel angenommene pilzparasitäre Natur der Krankheit und ist ein in den Gefäßbündeln der Kartoffelpflanze lebender Pilz, der auch wahrscheinlich der Gattung *Fusarium* angehört, als Ursache der Krankheit aufzufassen. Stift (Wien).

Hamann, Die Blattrollkrankheit der Kartoffeln. (Hess. Landw. Zeitg. Jg. 81. 1911. p. 311.)

Verf. ist nach seinen Erfahrungen der Ansicht, daß bei Entstehung der Krankheit nicht Pilze oder Bakterien die primären Ursachen sind, sondern die Witterungs-, Boden- und Düngungsverhältnisse. Stark gedüngte Kartoffelfelder lieferten nie so gute Saatkartoffeln wie ärmere Felder. Ferner steht auch die Beobachtung fest, daß Wirtschaften, die schon lange Jahre ausgedehnten Kartoffelbau bei geringem Viehstand unter Anwendung größerer Mengen künstlicher Düngemittel treiben, erheblich häufiger unter der Krankheit zu leiden haben als andere. Namentlich spielt hier die Kalisalzdüngung eine gewisse Rolle, die aber unterstützt werden muß durch andere äußere Verhältnisse, wie längere Trockenheit während der Vegetationsperiode der Kartoffeln. So hat die Trockenperiode des Jahres 1909 sicher die Grundlage für das erhebliche Auftreten der Krankheit im Jahre 1910 gegeben, da es doch auffallend ist, daß Kartoffeln von Feldern, die 1909 frei von blattrollkranken Stöcken waren, aber die Trockenperiode in erheblichem Maße mitgemacht haben, trotzdem, durch den späteren Regen bedingt, sehr große Erfolge brachten, während einzelne Felder, die stark mit Kalisalzen gedüngt wurden, 1910 fast ausnahmslos stark mit blattrollkranken Stöcken besetzte Felder ergaben. Ferner ist es Tatsache, daß besonders ausgewählte, vollkommen gesunde Stöcke mit hohem Ertrag von hervorragend schönen, gleichmäßig großen Knollen im Jahre 1910 ausnahmslos kranke Stöcke erbrachten. Diese Tatsache steht in keinem Einklang mit der Forderung, gesundes, ertragreiches Saatgut durch Auswahl der ertragsreichsten und gesunden Stöcke zu gewinnen. Es muß nicht unbedingt die Veredelungsauslese gesunde Nachkommenschaft liefern, in der Voraussetzung, daß von gesunden Stöcken ausgegangen ist. Jedenfalls bedarf diese auffallende Tatsache noch der weiteren Klärung. Die Sortenfrage mag auch eine Bedeutung bei dem Auftreten der Krankheit haben, aber wie weit, das muß noch festgestellt werden. Feststehend ist, daß dieselbe Sorte unter verschiedenen Verhältnissen stark unter der Blattrollkrankheit zu leiden hatte, unter anderen

jedoch nicht. Diese Tatsache gibt nun gerade der Saatenanerkennung bei der Kartoffel ihre große Bedeutung und die größte Sicherheit, soweit diese überhaupt zu geben ist, daß das Saatgut einem gesunden Feldbestand entstammt. In dieser Beziehung ist der Saatgut beziehende Landwirt stets sicherer gestellt, wenn er seine Saaten von Saathaustellen oder ähnlichen Organisationen kauft, als an anderen Stellen, die meist nicht wissen, wo die gelieferte Saatware gewachsen ist und woher sie stammt.

Stift (Wien).

Doby, G., Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. I. Die Oxydasen der ruhenden Knollen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. XXI. 1911. p. 10—17.)

1) **Sorauers** Ansicht über die Entstehung der oben genannten Kartoffelkrankheit betont insbesondere das Überwiegen der Peroxydase-reaktion und das Zurücktreten der Oxydase- sowie der Tyrosinasewirkung in kranken Knollen. Doch ermangelt die Enzymhypothese jeder experimentellen Begründung. Sehr wünschenswert wäre die Kenntnis eines Merkmales in der Saatknohle, um die lästige, oft gar nicht durchführbare Besichtigung der Felder in der Wachstumsperiode der Pflanze zu ersparen. Methoden müssen vor allem gesucht werden, mittels welcher zahlenmäßige Angaben über die enzymatischen Verhältnisse zu erlangen wären. Zwei Verfahren zu solcher Bestimmung von Oxydase, Peroxydase und Tyrosinase in frischen Pflanzenteilen hat Verf. ausgearbeitet, ohne aber bisher ein „enzymatisches Merkmal“ der Blattrollkrankheit zu finden.

2) Die Verfahren beruhen auf der gravimetrischen Methode von **Chodat** und **Bach** bzw. bezüglich der Tyrosinase auf dem Diaphanometer von **König-Krüß**. Die Verfahren werden sehr genau angegeben. Leider ergab sich, daß zwischen der Menge der Oxygenase, sowie Peroxydase bzw. der Tyrosinase und dem Gesundheitszustande der Kartoffel vorläufig kein gesetzmäßiger Zusammenhang wahrnehmbar ist. Ebenso wenig wurde der Ausdruck der noch disponiblen peroxydasischen Wirkung gefunden; die Geschwindigkeitskurven der Tyrosinasewirkung fanden auch keine Aufklärung. Um einen Einblick in die Physiologie der Kartoffel zu erhalten müssen zuerst doch noch ähnliche Untersuchungen wie die des Verf. sich auf andere Enzyme, namentlich auf die Diastase erstrecken, da Befunde über geringeren Stärkegehalt kranker Knollen vorliegen und andererseits müssen die Kartoffeln bei der Keimung studiert werden.

Matouschek (Wien).

Appel, O. und Schlumberger, O., Zur Kenntnis der Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Mitt. a. d. K. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Heft 11. 1911. p. 13.)

Verff. prüften die Angabe, nach der die Vergrößerung der Mutterknollen eine charakteristische Begleiterscheinung der Blattrollkrankheit ist, auf ihre Richtigkeit. Die Versuche zeigten, daß nicht nur bei kranken, sondern auch bei gesunden Stauden eine Vergrößerung der Mutterknolle eintritt; diese Vergrößerung fällt in die erste Entwicklungsperiode und ist etwa nach vier Wochen beendet.

Beim Nachbau der Ernte blattrollkranker Stauden war bisher immer ein Rückgang im Ertrag zu verzeichnen; die im vergangenen Jahre ausgelegten äußerst kleinen Knollen ergaben zwar keine normale Ernte, aber doch im Verhältnis zur Mutterknolle recht hohe Erträge; das Kraut der

Stauden zeigte keine Merkmale von Blattrollkrankheit. Die Ernte dieser Stöcke soll in diesem Jahre nachgebaut werden, um zu prüfen, ob eine allmähliche weitere Gesundung eintritt. Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Dafert, F. W., Bericht über die staatlichen Maßnahmen anlässlich des Auftretens und der Verbreitung der Blattrollkrankheit der Kartoffel in den Jahren 1908—1910. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchsw. in Österr. Jg. 19. 1911. p. 757.)

Als im Jahre 1907 die Blattrollkrankheit der Kartoffel an vielen Orten den Kartoffelbau in steigendem Maße bedrohte, hat das k. k. Ackerbauministerium eine großzügige Aktion zum Studium des Wesens, der Ausbreitung und der Bekämpfung des Übels eingeleitet, zu deren Durchführung ein besonderes Komitee eingesetzt worden ist. Die Arbeiten wurden von der k. k. landw.-bakteriologischen und Pflanzenschutzstation in Wien in Gemeinschaft mit Abteilung I der k. k. landw.-chem. Versuchsstation in Wien nach einem vom Komitee genehmigten einheitlichen Plane besorgt. Nach den angestellten Beobachtungen hat sich sowohl in Österreich als im Deutschen Reiche ergeben, daß das Problem der Blattrollkrankheit äußerst verwickelt und keineswegs von heute auf morgen zu lösen ist. Alle Bemühungen, die wahre Natur des Übels zu ergründen, sind bisher leider gescheitert. Nur in einer, allerdings entscheidenden Richtung ist ein Fortschritt zu verzeichnen, als bekannt ist, unter welchen besonderen Gesichtspunkten die Forschungen fortzusetzen sind, wenn sie Aussicht auf Erfolg bieten sollen. Stift (Wien).

Köck, G. u. Kornauth, K., Studien der Ursache der Blattrollkrankheit der Kartoffel und über die Möglichkeit der Übertragung dieser Krankheit durch das Saatgut und den Boden. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchsw. in Österr. Jg. 14. 1911. p. 759.)

Das am meisten charakteristische Symptom der Blattrollkrankheit ist das ganz eigenartige Einrollen der Blätter, das grundverschieden von den für die Kräuselkrankheiten charakteristischen Kräuselungen und Faltungen der Blättchen ist. Es ist daher völlig unrichtig und verwerflich in neuerer Zeit die ganz gut voneinander unterscheidbaren Erscheinungen des „Rollens“ und „Kräuselns“ mit einander zu vereinigen. Die praktisch sehr wichtige Frage, ob und inwieweit das Saatgut als Überträger der Blattrollkrankheit und für die Weiterentwicklung der Krankheit in Betracht kommt, wird nach den Beobachtungen und den Versuchsergebnissen der Jahre 1909 und 1910 dahin beantwortet, daß diese Krankheit durch das Saatgut übertragen und weiterverbreitet werden kann, d. h. daß Knollen, die von blattrollkranken Stauden stammen und im nächsten Jahre angebaut werden, gewöhnlich wieder blattrollkranke Pflanzen liefern, deren Ernteertrag von Jahr zu Jahr zurückgeht und die also eine fortschreitende Degeneration aufweisen. Damit ist jedoch nicht gesagt, daß jede Knolle einer blattrollkranken Pflanze wieder eine blattrollkranke Pflanze liefern müsse, nachdem ganz gut denkbar ist, daß eine oder die andere Knolle einer blattrollkranken Pflanze im nächsten Jahre eine ganz gesunde Pflanze liefert. Eine weitere Frage war die Übertragung der Krankheit durch den verseuchten Boden und im gegebenen Falle, inwieweit sich der Einfluß eines verseuchten Bodens auf gesundes Saatgut erstreckt. So weit nun nach den bisherigen Versuchen ein Schluß zu ziehen gestattet ist, läßt sich

diese Frage mit großer Wahrscheinlichkeit dahin beantworten, daß der verseuchte Boden die Blattrollkrankheit auf gesundes Saatgut übertragen kann, oder, anders gesagt, daß der Boden als Träger des die Krankheit verursachenden Organismus unter Verhältnissen, die der Entwicklung des Organismus günstig sind, auf gesundes Saatgut infektiös wirken kann.

Was nun die Ursache der Krankheit anbetrifft, so liegen diesbezüglich verschiedene Ansichten vor, die K ö c k und K o r n a u t h kritisch beleuchten. Nach ihren Untersuchungen erhält aber die pilzparasitäre Natur der Krankheit eine sehr wesentliche Stütze, nachdem sie in einem bestimmten Falle in allen untersuchten kranken Pflanzen deutlich in den Gefäßbündeln Pilzmyzelien vorfanden, die sich bei der künstlichen Kultur, so weit dies gelang, als Fusarienarten zugehörig erwiesen. In den gesunden Kontrollpflanzen fand sich nirgends ein Mycel vor. Das in die Pflanzen vom Boden aus eingedrungene Pilzmycel zeigte ein ungemein rasches Wachstum, da es sich Ende September bis in die Blattstiele des Gipfeltriebes hinein verfolgen ließ. K ö c k und K o r n a u t h haben allerdings sehr oft in typisch erkrankten Pflanzen kein Mycel vorgefunden und bleiben hierfür nur zwei Erklärungsmöglichkeiten offen. Entweder bringen von solchen Stauden herkommende, aber nicht vom Pilz infizierte Knollen wieder Pflanzen hervor, bei welchen die für die Blattrollkrankheit charakteristischen Blattrollungen einfach durch Vererbung festgehalten werden (und würde dies übereinstimmen mit dem pilzlosen Stadium der Blattrollkrankheit, wie dies seinerzeit S p i e c k e r m a n n gefunden hat) oder der Erreger, nachdem er in die Pflanze eingedrungen ist und bereits durch sein Vegetieren in den Gefäßen derselben die für die Krankheit charakteristischen Erscheinungen hervorgerufen hat, verschwindet wieder, und zwar dadurch, daß er bei dem von dem Momente der Infektion an beginnenden Kampfe von der Pflanze getötet und eventuell auch aufgezehrt wurde. Solche Fälle von „P h a g o c y t o s e“ kommen auch bei anderen Pflanzen vor. Bezüglich der chemischen Veränderungen bei der Blattrollkrankheit haben K ö c k und K o r n a u t h die Angaben S p i e c k e r m a n n s bestätigt gefunden, nach welchen den von kranken Pflanzen entstammenden Knollen der gleichen Sorte und des annähernd gleichen Entwicklungszustandes ein höherer (sandfreier) Aschengehalt zukommt. Aus dem Enzymgehalt, der Verteilung des Zuckers und der Stärke lassen sich keine sicheren Unterschiede zwischen kranken und gesunden Knollen erkennen. In bezug auf die Möglichkeit der Ausheilung der Krankheit präzisieren K ö c k und K o r n a u t h entschieden ihren Standpunkt dahin, daß niemals wirklich verseuchte, von einer blattrollkranken Pflanze stammende Knollen beim Anbau unter noch so günstigen Vegetationsbedingungen gesunde Pflanzen liefern können. Zur Bestätigung dieser Ansicht sollen im Jahre 1911 Versuche in der Weise durchgeführt werden, daß sämtliche von einer blattrollkranken Pflanze stammenden Knollen angebaut und während der Vegetationsperiode genau beobachtet und untersucht werden. Schließlich ließ sich aus den mykologischen Untersuchungen ein sicherer Zusammenhang zwischen Verfärbung der Gefäße und der Anwesenheit eines Pilzes in den Gefäßen nicht feststellen. Auch die Kultur des Pilzes aus jenen Teilen der Pflanze, in denen durch das Mikroskop ein Pilzmycel nachgewiesen worden ist, gelang relativ selten. Gefundene Bakterien (beinahe ausschließlich der Gruppe des *B a c i l l u s m e s e n t e r i c u s* angehörig) dürften trotz aller angewendeten Vorsicht mechanisch in das Gewebe, bei dem Schneiden in Scheibchen, mitgerissen worden sein. Von den nicht dieser Gruppe angehörigen Bakterien hatte keines bei den Impfversuchen eine pflanzenschädigende

Wirkung gezeigt und dürften diese daher als Erreger der Blattrollkrankheit auch unter günstigen Verhältnissen nicht in Betracht kommen.

Stift (Wien).

Appel, O. und Schlumberger, O., Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten. (Arb. d. Dtsch. Landw. Gesellsch. H. 190. 1911. 102 pp. 13 Textabb. 6 Schemakarten und 3 farbige Karten.)

Seitdem Appel im Jahre 1906 die Aufmerksamkeit auf eine Kartoffelkrankheit lenkte, die er als Blattrollkrankheit bezeichnete, haben sich eine große Zahl Phytopathologen mit dieser Krankheit beschäftigt und auch aus den Kreisen der Praktiker liegen zahlreiche Mitteilungen über gelegentliche Beobachtungen vor. Soviel man sich aber auch bisher bemüht hat, die Blattrollkrankheit in ihren Ursachen zu erkennen und eine auf der Kenntnis dieser Ursachen beruhende Bekämpfung zu ermitteln, zum Ziel ist man noch nicht gekommen. Die Ansichten über die Ursache der Blattrollkrankheit widersprechen sich noch vielfach, man findet in den Publikationen und nicht nur in denen der Praktiker die phantastischsten Erklärungen für die Entstehung der Blattrollkrankheit und die eigenartigsten Vorschläge für ihre Bekämpfung. Für jeden, der die Entwicklung der Forschungen über die Blattrollkrankheit nicht eingehend verfolgt hat, ist es jetzt fast unmöglich, ein klares Bild darüber zu gewinnen, welche Anschauungen über die Blattrollkrankheit augenblicklich die größte Wahrscheinlichkeit besitzen und was als sicher feststehend betrachtet werden darf. — Die Verff. der vorliegenden Arbeit haben sich der dankenswerten Aufgabe unterzogen, im ersten Teil ihrer Arbeit den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von der Blattrollkrankheit eingehend zu behandeln und haben dadurch eine leichte Information über die zahlreichen, sehr zerstreuten Arbeiten über die Blattrollkrankheit möglich gemacht. Die der Bearbeitung zu Grunde liegende Literatur ist in einem besonderen Teile zusammengestellt; diese Zusammenstellung gewinnt besonders dadurch an Wert, daß der Inhalt der einzelnen Arbeiten kurz angegeben worden ist. Außer dem referierenden Teil haben die Verff. in einem zweiten Teil die Frage nach der Bedeutung der Blattrollkrankheit für die Kartoffelernte und die Möglichkeit einer Steigerung der Kartoffelerträge behandelt. Im folgenden sollen nur in kurzen Zügen die wichtigsten Punkte hervorgehoben werden.

Als charakteristisches Merkmal der Blattrollkrankheit ist das Rollen der Fiederblätter annähernd parallel zur Mittelrippe zu betrachten; bisweilen ist dieses Rollen der Blätter von einer Verfärbung begleitet. Fast immer zeigen blattrollkranke Stauden ein sparriges, starres Wuchsbild, doch tritt diese Erscheinung nicht bei allen Sorten gleichmäßig hervor. In vielen Fällen ist der Ertrag blattrollkranker Kartoffelpflanzen äußerst gering; auch ist das lange Ausdauern der Mutterknollen zum mindesten als Verdachtsmoment für die Krankheit zu betrachten. Die früher für charakteristisch gehaltene Gefäßverfärbung steht mit der Krankheit nicht im Zusammenhang und auch die Vergrößerung der Mutterknollen kann nicht als Merkmal für die Blattrollkrankheit in Betracht kommen, da die Verff. durch genaue Messungen feststellen konnten, daß auch die Mutterknollen gesunder Stauden in der ersten Wachstumsperiode sich bedeutend vergrößern. Bisweilen können zwar die Nachkommen einer kranken Pflanze frei von der Krankheit sein, im allgemeinen ist aber die Vererbbarkeit ein Charakteristikum der Blattrollkrankheit.

Die Feststellung der Blattrollkrankheit ist nicht ganz einfach, weil das Auftreten eines einzelnen Merkmales noch nicht dazu berechtigt, die Diagnose

auf Blattrollkrankheit zu stellen; auch gibt es eine Reihe Kartoffelkrankheiten, die der Blattrollkrankheit mehr oder weniger ähnlich sind. So kann z. B. ein Rollen der Blätter auch durch große Nässe hervorgerufen werden. Bakterienringkrankheit und Kräuselkrankheit sind oft mit der Blattrollkrankheit verwechselt worden; auch diese Krankheiten werden von den Verff. beschrieben und abgebildet.

Die Ursache der Blattrollkrankheit ist noch nicht einwandfrei festgestellt und auch die Verff. können keine bestimmte Antwort geben. Die Ansicht, daß eine Entartung der Knollen infolge fortgesetzter vegetativer Vermehrung eingetreten ist, erscheint nicht haltbar, weil auch neue, durch Kreuzbefruchtung gesunder Eltern gewonnene Sorten blattrollkranke Individuen aufweisen, und selbst Sämlingspflanzen erkranken können. — Von verschiedenen Seiten ist die Vermutung ausgesprochen, daß die Blattrollkrankheit auf die Verwendung nicht ausgereifter Saatkollen zurückzuführen sei, doch haben Versuche, die in dieser Richtung von Hiltner u. a. ausgeführt worden sind, gezeigt, daß zu verschiedenen Zeiten geerntete Knollen im folgenden Jahre Pflanzen ergeben, die keinen Unterschied bezüglich des Auftretens der Blattrollkrankheit zeigen. — Auch die Pilztheorie läßt sich nicht mit Sicherheit aufrecht erhalten, solange es nicht gelingt, durch Infektion das Krankheitsbild hervorzurufen. Als Erreger könnten Pilze der Gattung *Fusarium* oder *Verticillium albo-atrum* in Betracht kommen, doch sind auch *Solanella rosea*, *Spondylocadium atrovirens* und Bakterien als Erreger bezeichnet worden. — Die Theorie, nach der die Blattrollkrankheit auf enzymatische Störung zurückzuführen sei, hat einer Prüfung nicht Stich halten können und auch die Anschauung, daß die Blattrollkrankheit durch besondere Bodenverhältnisse oder durch falsche Düngung hervorgerufen wird, ist nicht genügend gesichert.

In dem Abschnitt über die Anfälligkeit verschiedener Sorten haben die Verff. in erster Linie das reiche Material von Eckenbrechers verarbeitet. Die Anfälligkeit der Kartoffelsorten kann durch verschiedene äußere Faktoren beeinflußt werden; so kann z. B. „eine Sorte trotz gleicher Abstammung auf dem einen Versuchsfeld gesund sein, auf dem anderen dagegen mehr oder weniger krank.“

Die direkte Bekämpfung der Blattrollkrankheit ist unmöglich, solange man die Ursache der Krankheit nicht kennt; es gelingt nur, durch geeignete Vorbeugungsmaßregeln das Auftreten der Krankheit einzuschränken. Da es im allgemeinen sicher feststeht, daß die Krankheit erblich ist, ist die Verwendung gesunden Saatgutes das beste Mittel. In der Praxis stößt die Beschaffung gesunden Saatgutes auf große Schwierigkeiten, weil die Anerkennung von Saatkartoffeln noch nicht genügend durchgeführt wird. — Durch Anbau reiner Linien und Ausschaltung der anfälligen Stämme kann der Züchter widerstandsfähige Sorten erhalten.

In dem zweiten Teil ihrer interessanten Arbeit behandeln die Verff. die Kartoffelernten und die Möglichkeit ihrer Hebung. Zunächst gehen sie auf die Frage ein, wie weit überhaupt Krankheiten in unserer heutigen Erntestatistik zum Ausdruck kommen. Durch Gegenüberstellung der Statistik, wie sie vom kaiserlichen statistischen Amt veröffentlicht wird und einer Statistik des deutschen Landwirtschaftsrates wird gezeigt, daß die der Reichsstatistik zugrunde gelegten Flächeneinheiten zu groß sind, als daß mehr örtlich auftretende Krankheiten in ihrer Wirkung auf die Ernte zum Ausdruck kommen könnten; dies wird besonders einleuchtend, wenn man

das reiche Kartenmaterial, das die Verff. ihrer Arbeit beigegeben haben, eingehend studiert. Einer Statistik, in welcher der Einfluß von Krankheiten auf die Ernte zum Ausdruck kommen soll, müßten möglichst kleine Flächeneinheiten zugrunde liegen, auch müßte man „die Ertragsfähigkeit der angebauten Sorten berücksichtigen und direkte Beobachtungen über das Auftreten der Krankheiten heranziehen.“

Daß eine Steigerung unserer Kartoffelernten möglich ist, geht schon daraus hervor, daß andere Länder mit starkem Kartoffelbau höhere Hektarerträge aufweisen als Deutschland; auch stehen die Hektarerträge des deutschen Reiches weit hinter denen zurück, die die deutschen Kartoffelkulturstationen erzielen. Ein Mittel zur Hebung der Erträge liegt in der richtigen Wahl der für die einzelne Gegend geeigneten Kartoffelsorte. Um diese zu finden empfiehlt es sich, Sortenanbauversuche durchzuführen und Kartoffelkulturstationen einzurichten, wie sie vereinzelt schon eingeführt sind. Außer der Sortenwahl ist auch die Herkunft des Saatgutes, die Größe der Saatknollen und die Bodenbearbeitung von größter Bedeutung für den Ertrag.

Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Wollenweber, H. W., Untersuchungen über die natürliche Verbreitung der Fusarien an der Kartoffel. (Mitt. a. d. K. Biol. Anst. Heft 11. 1911. p. 20.)

Die häufigsten Kartoffel-Fusarien, die alle Organe der Wirtspflanze befallen können, sind *Fusarium subulatum* und *F. dimerum*; *Fus. solani* und *F. Martii* kommen besonders auf Knollen vor, ebenso auch *F. coeruleum* und *F. discolor* var. *sulphureum*. *Fus. subulatum* wurde Ende August in den Stengelgefäßen noch grüner Pflanzen gefunden; dieses *Fusarium* ist sehr häufig und scheint ein, wie Verf. sich ausdrückt, „fast alles fressendes“ *Fusarium* zu sein. In grünen Stengeln von Kartoffelpflanzen wurde auf einem Felde vorwiegend *Verticillium albo-atrum* gefunden.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Behrens, W. u. Marpmann, G., Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln. (Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. klin. Chem. Bd. 16. 1911. p. 91—99.)

Stets zeigte sich am ausgezogenen Krautstengel direkte Verletzung von Insektenfraß an den Wurzeln (von der Larve des Saatschnellkäfers). Die Untersuchung der Knollen und des Krautes schwarzfüßiger Kartoffeln zeigte keine Bakterien direkt. Daher wurden diverse Kulturmethoden angewendet, um Bakterien nachzuweisen. In einer Tabelle werden die gefundenen Bakterien genau nach ihren Eigenschaften registriert; es sind ihrer 7 Arten, die gut charakterisiert sind. Doch nur 2 „Arten“ bringen wohl die Krankheit hervor. Die eine Art besteht aus beweglichen Stäbchen, 1,5—2,0 mm × 1,0 mm breit, mit matten Kolonien; in Agar weiße Auflagerungen, nicht fluoreszierend, auf Bleikarbonat-Gelatine schwarze Färbung der Kolonie zeigend. Die andere Art ist etwas länger, verflüssigt die Gelatine schwach, zeigt in Agar zusammenfließende Auflagerung und grauweiße Farbe, auf der genannten Gelatine schwarze Koloniefärbung. Doch darf man nicht vergessen, daß in anderen Äckern andere Bakterien ins Gewebe eindringen können. Junge Kartoffeln wurden wohl mit Reinkulturen der gezüchteten Pilze geimpft, es zeigte sich leider, daß bei den jungen Keimen und bei den unterirdischen Blattrieben eine Infektion mit den gefundenen Bakterien in der Weise verlief, daß die ausgetrockneten Gewebe so schnell oberflächlich aus der Erde

wuchsen, daß eine Veränderung nicht zu bemerken war. Vorversuche scheinen zu beweisen, daß die Bakterien mit der Pflanzenkrankheit nicht in Zusammenhang stehen. Doch ist ein Unterschied zu machen zwischen künstlicher Infektion und natürlicher auf dem Felde. Nur groß angelegte Kulturen könnten Klarheit bringen.

M a t o u s c h e k (Wien).

Butler, E. D., Potato blight (*Phytophthora infestans*).
(The Agric. Gaz. of New S. Wales. Vol. 22. 1911. p. 409.)

Verf. behandelt in populärer Form die Phytophthora-Krankheit der Kartoffel und ihre Bekämpfung mit Bordeauxbrühe.

R i e h m (Gr.-Lichterfelde).

Horne, A. S., On potato „leaf blotch“ and „leaf curl“. (The Journ. of the Roy. Horticult. Soc. Vol. 36. 1911. p. 618).

Verf. fand in Schottland an drei verschiedenen Orten auf Blättern von Kartoffelpflanzen der Sorte „President“ kleine schwarze Flecken; das Saatgut war in allen Fällen aus Holland bezogen. Die Krankheit erschien beim Nachbau im folgenden Jahr wieder. Andere Kartoffelsorten, die direkt daneben angebaut wurden, erkrankten nicht. — Auch Blattrollkrankheit wurde vom Verf. beobachtet.

R i e h m (Gr.-Lichterfelde).

Swoboda, W., Die Insektenschädlinge unserer wichtigsten Gemüsepflanzen. (Wien. Landw. Zeitung. Jg. 61. 1911. p. 568.)

Hervorgehoben werden:

Auf Kohl: Engerlinge, Drahtwürmer und viele Rüsselkäfer, wie *Balaginus brassicae* (in Blüten), *Baridus lepidi* (an Wurzelstöcken und Kohlstengeln Gallenbildungen verursachend), *B. cuprirostris* und *B. chlorizans* (an Strünken von Kohlrabi und Stengeln von Wirsing), *Ceutorhynchus boragis* und *C. assimilis* (in Blüten und Samenkörnern), ferner Raupen des Kohlweißlings *Pieris brassicae*, *P. rapae* und *P. napi*, der Kohleule, *Mamestra brassicae*, der Gemüseeeule, *M. oleracea*, der Ypsiloneule, *Plusia gamma*, der Wintersaateule, *Agrotis segetum*, der *A. pronuba*, des Spanners *Cidaria fluctuata*, des Rübsaatpfeifers, *Botys margaritalis*, der *Plutella cruciferarum* und schließlich der Federmotte, *Alucita mictodactyla*. Die Larven der Mücke *Tipula oleracea* und *Anthomyia trimaculata* benagen die Wurzeln, während die Fliegenmaden von *Notiphila flaveola* und *Lasiops occulta* die Kohlblätter minieren. Lästig wird auch die Kohllaus, *Aphis brassicae*, während die Wanze *Cimex oleraceus* weniger schädlich wirkt. Nach Kohl werden Salat und Lattich am meisten von Insektenschädlingen mitgenommen, nämlich vom Engerling, Drahtwurm, braunen Bär, *Arctia caja*, denselben Eulenraupen wie beim Kohl, wozu sich noch *Agrotis exclamationis* und einige Poliaarten gesellen, vom Wickler *Grapholita conterminata*, der Fliege *Trypeta amoena* und *Anthomyia lactucarum*, und den Läusen *Aphis lactucae* und *A. sonchi*. Die Möhre leidet durch: Engerling, Drahtwurm, Schwalbenschwanz, *Papilio machaon*, Totenkopfschwärmer, *Acherontia atropos*, Weinschwärmer, *Spinx celerio*, *Agrotis pronuba*, *Mamestra persicariae*, *Depressaria purpurea*, *D. daucella*, die Fliege *Psila rosae*, die Heuschrecke *Thrips vulgatissima* und die Blattlaus *Aphis carotae*. Auf Spargel findet man: Die Käfer *Lema asparagi*, *L. 14 punctata*, *L. 12 punctata*, *L. 5 punctata* und *L. campestris*, die Eulen *Mamestra pisi*, *M. oleracea* und *Calocampa exoleta*, die Spargelfliege, *Platyparea poeciloptera* (der hauptsächlichste Schädling) und die Blattlaus *Aphis papaveris*. Rettig wird von den gleichen Schädlingen wie der Kohl befallen, dann vom Rüßler *Ceutorhynchus boraginis*, vom Rübsaatpfeifer, *Botys margaritalis*, von der Fliege *Anthomyia floralis* und der Kohllaus *Aphis brassicae*. Kümmel und Fenchel werden zum Teil auch von den Möhren-

schädlingen heimgesucht. Schädlich wirken auch die Kümmelmotte, *Depressaria nervosa* und die Blattläuse *Aphis capreae*, *A. foeniculi* und *A. cicutae*. Zwiebeln und Laucharten haben wenige Feinde. Die kleine Raupe einer Schabe *Acrolepia betulella* lebt in den Röhren von Zwiebeln und Porree und bohrt sich in Gemeinschaft mit den Fliegenlarven *Drosophila phalerata*, *Eumerus strigata* und *E. aeneus*, *Anthomyia ceparum* und *A. fuscata* bis an die Wurzeln hinab. Schalotten werden durch die Fliegenmade *Anthomyia platyura* geschädigt. Sellerie und Petersilie leiden hauptsächlich durch die Eulenraupen von *Mamestra* und *Agrotis*; die Fliegenlarve *Piophilapi* frißt in den Sellerieknollen. Der Feld- oder Vögerlsalat wird von der Eulenraupe *Caradrina quadripunctata* angefressen, während die Fliegenmade *Phytomyza albiceps* in den zarten Blättern miniert; *Psylla fediae* saugt an den Blüten des Feldsalats. Am wenigsten hat der Spinat zu leiden. Bisher wurden nur die Eulenraupe *Amphipyra tragopogonis* und die Kleinschmetterlingsraupe *Heliodes roesella* beobachtet. An Gurken wurden bisher keine nennenswerten Spuren von Insektenschädlingen gefunden.

Stift (Wien).

Paál, Arpád, *Teratologiai megfigyelések a Phaseolus*. [Teratologische Beobachtungen bei Phaseolus]. (Magyar botanikai lapok. Bd. 10. 1911. p. 99—100.)

Die Keimversuche ließen Reihen von Variationen der Keimblätter entstehen, deren Zahlenverhältnisse jenen entsprechen, welche von De Vries für Anomalien festgestellt worden sind. Auch in der Zahl der Primordialblätter wurden Abweichungen bemerkt. Diese Eigenschaften sind durchwegs vererbbar. An Epicotyledonen sah der Vortragende nächst der Basis der Primordialblätter kleine fädliche Gebilde, die er als heterotaktisch auftretende Caulomgebilde deutet.

Matouschek (Wien).

Paál, Arpád, *Teratologiai megfigyelések a Phaseoluson*. [Teratologische Beobachtungen an Phaseolus]. (Botanikai Közlemények. Bd. 10. 1911. p. 35—38).

1) Die verschiedenen Cotylvarianten bei *Phaseolus vulgaris* (hemitri-, tri-hemitetra-, tetracotyl) werden beschrieben, ebenso die damit verbundenen Anomalien der primären Blätter. Die Wurzeln der meisten tricotylen Exemplare sind typisch hexarch.

2) Ein teratologisches Gebilde wird genau erläutert: Ein zarter Faden, der aus der Achsel eines nebenblattartigen, zweiseitigen, aus dem oberen Teile des Epicotyls sprossenden Blättchens hervorwuchs. Er enthält weder Cambium noch Gefäße und ist wohl ein rudimentäres Blattgebilde, wenn man das kleine Stützblatt als 2 verwachsene Nebenblätter betrachtet.

Matouschek (Wien).

Maire, R., et Tison, A., *Nouvelles recherches sur les Plasmodiophoracées*. (Annal. mycol. Vol. 9. 1911. p. 226—246, m. 5 Taf.).

Tetramyxa parasitica ist eine Plasmodiophoracee. Die endophytische Entwicklung ist die gleiche wie bei anderen Vertretern dieser Familie; nur daß das Chromidialstadium zu Beginn der Sporenbildung fehlt. Bei den zur Gattung *Ligniera* gehörigen Plasmodiophoraceen erfolgt die Entwicklung in den Wurzeln, ohne hier Anschwellungen zu verursachen. Die Bildungen der Schizonten ist reduziert oder fehlt ganz; der ganze Entwicklungsgang spielt sich in einer wenig oder nicht veränderten Wirtzelle ab.

Was als *Tetramyxa Triglochinis* beschrieben wurde, muß von *Tetramyxa* getrennt werden und die Gattung *Mollardia* bilden.

Die Mitose bei der Schizontenbildung ist bei allen bekannten Plasmodiophoraceen die gleiche und daher ein Familienmerkmal.

Von den Myxomyceten unterscheiden sich die Plasmodiophoraceen durch den Mangel einer wiederholten Karyogamie vor der Sporenbildung. Die Beziehungen von *Ligniera* zu *Rhizomyxa* und *Woronina* wirft ein bemerkenswertes Licht auf die vermutete Abstammung der Plasmodiophoraceen von jenen Chytridiaceen.

N e g e r (Tharandt.)

Muth, Fr., Über das Verhalten der Gurken in diesem Sommer. (Zeitschr. f. Wein-, Obst- u. Gartenbau. Jg. 7. 1910. p. 341—146.)

In Rheinhessen litten die Gurkenpflanzen im Sommer 1910 stark unter diversen tierischen Schädlingen; sie waren schon geschwächt, als auf die längere Trockenperiode recht nasses Wetter eintrat. Daher kam es zu Mißbildungen in dem Wurzelhalse. Diese Risse waren entweder recht groß, oder sehr fein; im letzteren Falle trat Braunfärbung der angrenzenden Zellpartien auf. Es wimmelte in diesen von lebhaft beweglichen Stäbchenbakterien. Hinwieder traten Botrytis und Fusarien (Fadenpilze) auf. Beide gelangten aber erst nachträglich in die Risse und in den Wurzelhals.

Mittel gegen diese Kalamität:

1) Als Schutzmittel gegen das Verwelken in der Trockenperiode wiederholtes Bespritzen der Blätter mit $\frac{3}{4}$ -proz. Kupferkalkbrühe. Gegen Schnecken und Drahtwürmer tüchtiges mehrmaliges Aufstreuen von gutem frischen Kalk auf den Boden. Blattläuse und Springschwänze werden durch kräftiges Aufstreuen von Tabakstaub auf die Pflanzen oder durch das Bespritzen der Gurken mit 2-proz. Schmierseifenlösung + 0,5 Proz. einer 10-proz. Nikotinlösung mittelst der *Peronospora* spritze bekämpft. Die Blätter müssen nur auch von unten gut getroffen werden.

2) Vermeidung derjenigen Anbauflächen, wo die Gurke erfahrungsgemäß leicht abstirbt. Engere Reihen dort, wo der Boden trocken ist. Anbau von widerstandsfähigen Sorten.

M a t o u s c h e k (Wien).

Laubert, R., Die *Corynespora*-Blattfleckenkrankheit der Gurke, ihre Verbreitung und Bekämpfung. (Deutsch. Landw. Presse. Jahr. 38. 1911. p. 71).

Vom Verf. wird eine bisher in Deutschland noch fast unbekannte Erkrankung der Gurken beschrieben und als deren Erreger ein Pilz, *Corynespora melonis*, festgestellt. Die Krankheitssymptome bestehen im Auftreten von Blattflecken, die im Anfangsstadium ohne scharfe Umgrenzung und von bleich-gelblicher Farbe sind, später jedoch in der Mitte grau eintrocknen und von einem dunkleren, bräunlichem Saume umgeben werden. Als Charakteristikum für die Flecke wird angeführt, daß sie auf der Unterseite, in beschränkterem Grade auch auf der Oberseite, schwarzgrau behaart erscheinen. Bei mikroskopischer Besichtigung erweisen sich die vermeintlichen Haare als dunkle, rauchfarbene Sporenträger. Die Sporenträger sind unverzweigt und mit einer Septe versehen, gegen das Ende etwas eingesenkt. Die Sporen selbst sind keulen- bis wurmförmig, gerade oder etwas gebogen, die dickwandigeren in 4—24 hintereinander gereihte Kammern geteilt. Verf. gibt sodann ausführlich an, was bisher in der Literatur über den Pilz bekannt ist und rechtfertigt seine Benennung. Zum Schluß wird näher auf die bisher üblichen Bekämpfungsmethoden eingegangen, von denen folgen-

de namhaft gemacht werden: Verwendung von völlig gesundem Saatgut aus unverseuchten Züchtereien, 4stündiges Beizen der Samen in $\frac{1}{2}$ Proz. Formalinlösung, Entfernen und Vernichten aller stark erkrankten Blätter und Pflanzen nach vorhergehender Bespritzung mit $\frac{1}{2}$ Proz. Kupfervitriollösung, schwach befallene Pflanzen mit 0,4 Proz. Kaliumsulfid oder Bordeaux-Brühe bespritzen, Bestäuben mit Schwefelpulver (Blattunterseite hauptsächlich) Desinfektion der Treibhäuser und -Kästen, Erneuerung der Erde, Fruchtwechsel, Auswahl und Zucht weniger anfälliger Sorten. Letzteres dürfte nach Ansicht des Verf. am ehesten Erfolg bei der Bekämpfung versprechen. Gemeinsame Maßnahmen aller benachbarten Gurkenzüchter zur Bekämpfung des Pilzes.

K r a u s e (Bromberg).

Laubert, R., Bittere Melonen. (Handelsbl. f. d. Deutsch. Gartenbau u. d. m. ihm verw. Zweige. Jahrg. 26. 1911. No. 38).

Da in der pflanzenpathologischen Literatur über die Bitterkeit der Melonen nach dem Verf. nichts bekannt ist, wird ein von ihm beobachteter Fall derselben kurz beschrieben. An einer zur Untersuchung vorliegenden Melone zeigten sich auf verschiedenen Stellen der Schale „bräunlichgelbe, etwas glasig aussehende, ein wenig eingesunkene, weiche Faulstellen, die mit einem anfangs weißen, später rosafleischfarbenen, sammetartigen Schimmel bedeckt waren“. Die gleichen Krankheitssymptome machten sich auch an dem Stengelende bemerkbar. Die erwähnten Faulstellen erstreckten sich ein Stück weit in das Fruchtfleisch und zeigten bei der mikroskopischen Untersuchung die Anwesenheit von *Trichotecium roseum* Link. Die Infektion der Früchte durch den Pilz erfolgt durch kleine Wunden, Verletzungen etc. und wohl nur bei Früchten, die sich im Zustande der Wachstumsruhe (völlig reife Früchte) befinden. Zur Verhütung der Bitterfäule werden daher alle Maßnahmen dienen, welche etwaige Verletzungen der Früchte bei der Ernte oder in den Aufbewahrungsräumen ausschließen. Letztere sind außerdem peinlichst sauber, kühl, luftig und trocken zu halten.

K r a u s e (Bromberg).

Wahl, Bruno, Über zwei neue Hopfenschädlinge. (Wien. Landw. Ztg. Jg. 61. 1911. p. 416.)

In den böhmischen Hopfengegenden sind in neuerer Zeit zwei bisher als Hopfenschädlinge nicht bekannte Feinde des Hopfens bemerkbar geworden und zwar die Raupe einer Graswurzeleule (*Hydroecia micaceae* Esp.), die bisher schon wiederholt als Schädling auch an Kulturpflanzen (Erdbeeren, Rüben, insbesondere aber an Kartoffeltrieben, ferner in grünen Tomatenfrüchten) beobachtet wurde und die Larve einer Mückenart (Cecidomyidenlarve), die vielleicht mit der in England aufgetretenen und einstweilen *Diplosis humuli* benannten Mückenart identisch ist. Die erstgenannte Raupe pflegt sich unter der Erde in die Hopfenreben einzufressen und höhlt das Mark der Rebe aus. Die Blätter der beschädigten Hopfenreben werden welk, die Rebe selbst reißt leicht an der Fraßstelle ab; manchmal werden auch oberirdische Rebenteile befallen. Zur Bekämpfung wird angeführt, daß bei der Kulturarbeit in der zweiten Hälfte Juli zahlreiche Raupen und Puppen vernichtet werden. Bei welken und trocken gewordenen Reben sind die Wurzelstöcke zwecks Aufsuchung und Vernichtung der Raupen freizulegen. Zur Ausbreitung des Schädlings tragen die vorhandenen Sumpfgräben mit ihrer Flora von verschiedenen Ampferarten mit bei. Die Larve der Hopfenmücke schädigt wieder den Hopfendolden, indem sie minierend in der sich schwärzenden Doldenspindel oder in der Basis

der Doldenschuppen frißt; vielfach sitzen die Maden auch frei zwischen den Schuppen. Die Folge des Befalles ist eine bräunliche Verfärbung der Dolden und manchmal auch ein Ausfallen der Doldenschuppen. Zur Bekämpfung wird bei schwachem Befall baldiges Ernten und Trocknen des Hopfens, bei starkem Befall Eintrieb der Schafe in die Hopfengärten empfohlen, womit bezweckt werden soll, die am Boden befindlichen Larven in die Erde zu treten und so zu vernichten. Endlich wird auch in England ein gegen den Puppenzustand der Mücke anzuwendendes Insektizid, „Vaporit“ genannt, (25 % Naphtalin und 75 % Gaskalk) empfohlen, dessen Wirksamkeit aber noch dahinsteht.
Stift (Wien).

Matějka, Franz, Choroby lesních dřevin. Přednášky pro lesnické ústavy. I. díl. [= Krankheiten forstlicher Holzgewächse. Vorlesungen für Forstlehranstalten, Teil I.] 8°. 140 pp. Pisek i. Böhmen (Forstlehranstalt) 1910. Kronen 3.—. [Tschechisch.]

Ein besonders die in Österreich-Ungarn vorkommenden Krankheiten handelndes Werk. In der Einleitung die Literaturgeschichte der Phytopathologie, Unterschiede zwischen gesunden und kranken Pflanzen, allgemeine Begriffe der Disziplin; es folgen die Krankheiten, welche durch pflanzliche Organismen erzeugt werden. **Franz Bubák** sah diesen Teil durch. Die Abbildungen sind zumeist Originale.

Es ist begreiflich, daß eine große Zahl von Einzelbeobachtungen und so manche interessante Daten jeden Fachmann interessieren werden. Sie alle da aber anzuführen geht nicht an. Man sehe im Original nach.

Matouschek (Wien).

Fron, G., Maladie du Pinus strobus déterminée par *Lophodermium brachysporum* Rostrup. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 27. 1911. p. 44—46.)

Verf. berichtet über das Auftreten der Nadelschütte der Weymouthskiefer in Frankreich, und macht einige Angaben über diese Krankheit. Neue Tatsachen sind nicht enthalten. Verf. weist schließlich darauf hin, daß bei Nancy die Nadelschütte der Kiefer (verursacht durch *Lophodermium Pinastri*) durch Bordeauxbrühe mit Erfolg bekämpft wurde und daß möglicherweise auch bei der Nadelschütte der Weymouthskiefer ähnliche Resultate zu erhoffen sind.
Lakon (Tharandt).

Feist, K., Nachweis einer Schädigung von Fichten durch Röstgase. (Arch. d. Pharm. Bd. 249. 1911. p. 7.)

In einem bestimmten Falle handelt es sich um die direkte Schädigung durch Röstgase, die einer Anlage zum Rösten von Siderit (Fe CO_3) entstammten. Die Untersuchung der Nadeln der kranken Fichten ergab einen um 58,3 % erhöhten Gehalt an H_2SO_4 und der Aschengehalt stieg bei ersteren um 31,6 % gegenüber dem der gesunden. Die Alkalität der Asche war vermindert. Aus dem Boden konnte der große Gehalt an Schwefelsäure nicht kommen, da der Boden des Bezirkes, auf dem die gesunden Fichten standen, die gleiche Menge von H_2SO_4 besaß wie der Boden aus dem Bezirke der kranken Bäume. Fichten in der Nähe der Anlage litten durch das Schwefelsäureanhydrit bedeutend stärker als die entfernt stehenden.

Matouschek (Wien).

Bargmann, Warum verschwinden Tannensaat und Tannenanflug so oft wieder? (Forstwiss. Zentralbl. Jg. 33. 6. 1911. p. 309—307.)

Es ist bekannt, daß Tannensaat ausgezeichnet anlaufen, aber nach und nach gewöhnlich wieder verschwinden. Verf. gibt die Ursachen dieser Erscheinungen an:

1. Die Saaten müssen mitunter zu einer Zeit ausgeführt werden, da sich die Hackstreifen noch nicht genügend gesetzt haben.

2. Das Laub erstickt oft die Saat. Der Boden befindet sich oft nicht in dem richtigen Zustande der Gare; er weist meist statt milden (jungen) zu alten (Roh-)Humus auf. Zuweilen enthält der Boden nicht das Minimum an den Nährstoffen (besonders Kali), die die Tanne nötig braucht.

3. Schlagunkräuter dürfen auf keinen Fall überhandnehmen. Nie ist die Verjüngung im Schirmschlage vorzunehmen.

4. In einem bestimmten Falle waren an der Vertilgung der Tannensaat die vielen Regenwürmer mitbeteiligt. U s e n e r bemerkte Schnecken bei der Arbeit.

M a t o u s c h e k (Wien).

Bruhn, Walter, Beitrag zur Flora des Kiefernwaldes und zur Wuchsform der Kiefer (*Pinus silvestris*). (Archiv d. Vereins der Freunde der Naturgeschichte in Mecklenburg. Jg. 64. 1910. p. 104—124. Mit 3 Taf.)

Das Auftreten der Kiefer in Mecklenburg; Begleitpflanzen der Kiefer (Kryptogamen und Phanerogamen).

Eigene Beobachtungen über Regenerationserscheinungen und über das damit verbundene abnorme Wachstum der Kiefer. Zahlreiche Triebspitzen werden durch *Hylesinus piniperda* L. und *H. minor* Htg. abgestochen. *Caeoma pinitorquum* (Aecidienform) ruft die Drehwüchsigkeit hervor. *Peridermium Cornui* erzeugt Kienzöpfe. Folgende Fälle von Regenerationserscheinungen werden besprochen und abgebildet:

1) Neben dem Hauptstamme entsteht ein schwächerer Stamm.

2) Ersatz des Hauptsprosses durch einen zunächst bogenförmig dann vertikal wachsenden Seitentrieb.

3) Neben dem wirklichen Ersatzsproß hatten sich ursprünglich noch mehrere Seitenäste aufgerichtet.

4) Entwicklung von drei kräftigen Seitentrieben infolge Gipfelverlustes.

5) Die wachstumsfähigen Glieder eines Jahrtriebes haben nach Verlust des Gipfels die Kronenbildung übernommen.

6) Aufrichten eines Seitentriebes trotz Vorhandenseins eines allerdings nur schwach wachsenden Hauptsprosses.

8) Allmähliches Absterben des Gipfelsprosses infolge der in den Seitensproß geleiteten Nährstoffzufuhr.

8) Mehrere Seitenäste haben sich zum Ersatze des verkümmerten Hauptsprosses aufgerichtet.

9) Bei Einzelbäumen kommt es oft zur Aufrichtung mehrerer Seitentriebe zum Ersatze des verlorengegangenen Haupttriebes.

10) Windfahnenbäume auf ganz isoliertem Standorte oder am Waldesrande. Die Flachwüchsigkeit ist ja auf Windwirkung zurückzuführen. Bildung bizarrer Baumformen („Gespensterwald“) in Küstenwäldern.

M a t o u s c h e k (Wien).

Doroguine, Une maladie cryptogamique du Pin. (Bull. Soc. Mycol. France. T. 27. 1911. p. 105—106.)

Verf. beobachtete auf den Nadeln von *Pinus montana* Mil. in dem Park des forstlichen Instituts in Lesnoj bei St. Petersburg eine Krankheit, welche sich in dem Auftreten von kleinen, gelben Flecken auf den Nadeln äußert. Auf diesen kranken Flecken konnte Verf. kleine Erhebungen beobachten, welche das Stroma eines Pilzes darstellen. In dem inneren Raum dieses Stromas sind fadenförmige, hyaline, schwach gekrümmte und mit 1—3 Querwänden versehene, $22-30 \times 3-4 \mu$ große Sporen enthalten. Dieser Pilz stellt eine neue Art der Gattung *Cytosporina* mit mehrzelligen Sporen dar. Verf. nennt diese neue Art *Cytosporina septospora* und gibt eine lateinische Diagnose bei. Lakon (Tharandt).

Selby, A. D., The blister rust of white pine (*Peridermium Strobi* Klebahn) found in Ohio. (The Ohio Naturalist. Vol. 11. 1911. p. 285—288.)

M. Evans hat einige befallene Bäume zu Akron in Ohio nachgewiesen. Die Bäumchen stammten 1908 aus Frankreich. Zu Painesville, Ohio, sah Verf. wiederum die Krankheit. Auch in diesem Falle wurden die Pflanzen aus Frankreich importiert. Verf. macht mit Recht auf die Gefahr der Ausbreitung der Krankheit aufmerksam. Matouschek (Wien).

Spaulding, Perley, The Blister Rust of white Pine. (U. S. Departem. of Agricult. ,Bur. of Plant Industry, Bull. No. 200. 1911. 88 pp. II. T.)

Verf. gibt in der vorliegenden Arbeit auf Grund der umfangreichen Literatur und eigener Beobachtungen eine ausführliche Monographie des Blasenrostes der Weymouthskiefer.

Er beginnt mit der geschichtlichen Entwicklung der Kenntnisse über die Krankheit und den sie verursachenden Pilz, *Peridermium Strobi* Kleb. Ganz besonders verdient um die Erforschung dieses gefährlichen Kiefernparasiten hat sich Klebahn gemacht, der zuerst in dem auf der Weymouthskiefer vorkommenden Rostpilz eine besondere Art erkannte und der den Nachweis experimentell erbrachte, daß das *Cronartium ribicola* der *Ribes*-Arten die Uredo- und Teleutoform des *Peridermium Strobi* darstellt. Über die Verbreitung des Pilzes in der alten Welt werden zahlreiche Literaturbelege gebracht. Es zeigt sich, daß der Pilz fast über ganz Europa verbreitet ist, und in Deutschland am häufigsten festgestellt worden ist, wahrscheinlich aber nur, weil Deutschland mykologisch am besten erforscht ist. Die Krankheit ist in Amerika ursprünglich nicht heimisch, ist aus Deutschland durch eine Sendung von mehreren Millionen jungen Weymouthskiefern eingeschleppt und über zahlreiche Orte verbreitet worden.

Zur ökonomischen Bedeutung des Blasenrostes führt Verf. aus, daß der Schaden, den der Pilz an den *Ribes*-Sträuchern verursacht nicht erheblich zu sein pflegt, da das Mycel nicht in der Pflanze zu überwintern scheint, nur zwei Fälle sprechen bisher gegen diese Annahme. Verhängnisvoll für die Verbreitung des Blasenrostes ist, daß nahezu alle Arten von *Ribes* von *Cronartium ribicola* befallen sein können. Ganz bedeutenden Schaden jedoch richtet die Spermatien- und Aecidienform, das *Peridermium*, auf den Weymouthskiefern an. Verf. bringt ausführliche Angaben über die

Größe des aus den einzelnen Gebieten Europas berichteten Schadens, der durch die Blasenrostkrankheit an *Pinus strobus* angerichtet worden ist.

Der Pilz dürfte ursprünglich auf *Pinus cembra* zu Hause gewesen sein und ist von dieser auf die Kiefern der Sektion *Strobus* übergegangen. Von diesen zeigt die Krankheit bisher außer *P. strobus*: *P. monticola*, *P. lambertiana*, *P. excelsa*. Verf. gibt eine Liste der übrigen Kiefern aus der *Strobus*-Gruppe und ist der Ansicht, daß, da auch diese alle der nördlichen gemäßigten Zone angehören, diese ebenfalls als Wirte des *Peridermium Strobi* in Betracht kommen könnten. Nachweise hierüber liegen nicht vor. Mit Hilfe zahlreicher Literaturangaben konstatiert Verf., daß das *Cronartium ribicola* von sämtlichen *Ribes*-Arten *Pinus strobus* zu infizieren vermag, für *Pinus cembra* kommt nur in Betracht *Ribes alpinum*, *R. nigrum*, *R. petraeum*, für *Pinus montana* nur *Ribes sanguineum*. Am wenigsten leicht wird befallen *Ribes grossularia*, ohne jedoch vollkommen immun zu sein; es gelang Klebahn und auch dem Verf., die Stachelbeere mit Erfolg zu infizieren. Besonders empfänglich scheinen: *Ribes nigrum*, *R. aureum*, *R. rubrum*, doch wird von diesen Arten wahrscheinlich die Krankheit am häufigsten berichtet, weil diese am meisten kultiviert werden.

Es folgt nunmehr eine eingehende Beschreibung des Krankheitsverlaufes. Dem allgemeinen Teil schließt Verf. bis ins Einzelne gehende Ausführungen über das Auftreten und die Gefahr der Blasenrostkrankheit in Amerika an. Die Darlegungen leiden unter einer ungeeigneten Disposition. Verf. bemüht sich, die Gefahr, die die Verbreitung der Blasenrostes für Amerika in sich birgt, von allen Seiten zu beleuchten. Es sei eine wohlbekannte Tatsache, daß ein Pilz, wenn er in ein anderes ihm günstiges Klima gebracht wird und außerdem neue Pflanzen angreifen kann, bösartiger wird und größeren Schaden anrichtet als in seiner Heimat. Beispiele sind *Uncinula necator*, *Sphaerotheca mors-uvae*, *Phytophthora infestans* und von den hier in Rede stehenden Rostkrankheiten: der Rost von *Asparagus* und *Cronartium ribicola* selbst. Wie sich dieser Pilz wahrscheinlich von Sibirien und den Alpen aus in 17 Jahren über ganz Europa ausbreitete und mit dem Übergang auf *Pinus strobus* heftigere Krankheitserscheinungen hervorrief, so ist nach Verf. auch für Amerika die Gefahr einer schnellen Verbreitung des Pilzes sehr groß und zwar besonders für den Westen, wo die Rostpilze ein sehr günstiges Klima zu finden scheinen. Wenn man erwägt, daß die Kiefern der *Strobus*-Gruppe in den Wäldern Amerikas weit verbreitet sind — sie fehlen nur in Texas und Oklahoma östlich und nördlich des Ohio, doch werden hier jetzt *Pinus excelsa* und *P. ayacahuite* angepflanzt — und daß *Ribes*-Arten im ganzen Lande häufig sind, so muß zugegeben werden, daß die Krankheit ungeheueren Schaden in Amerika anrichten könnte. Verf. schätzt den möglichen Schaden und verbreitet sich alsdann über die Frage, wie der Verbreitung der Krankheit entgegengewirkt werden kann. Die Untersuchung der aus Europa eingeführten jungen Pflanzen sei zwecklos, da die Pflanzen infiziert sein können, ohne krank zu erscheinen. Das gilt besonders für Pflanzen unter 3 Jahren, denn die Fruktifikation beginnt stets erst 3 Jahre nach der Infektion. Amerika müßte somit zunächst mittels einer Pflanzenschutzgesetzgebung die Einführung junger Weymouthskiefern, die noch immer in großem Maßstabe

stattfindet, sowie jeglicher *Ribes*-Arten untersagen. Nachwuchs muß im Lande selbst erzeugt werden, es hat sich gezeigt, daß das Mehr der Kosten von jungen Kiefern, die in Amerika aufgezogen werden, sich reduzieren läßt. Um die nun bereits eingeschleppte Krankheit am weiteren Vordringen zu verhindern, müssen äußerst streng die bekannten Maßregeln durchgeführt werden.
E d d e l b ü t t e l (Göttingen).

Pethybridge, Geo. H., The „bladder rust“ of scots pine. (Dep. of Agric. and Techn. Instr. f. Ireland Journ. Vol. 11. 1911. p. 500.)

Verf. berichtet von sehr starkem Auftreten von *Peridermium pini*.
R i e h m (Gr.-Lichterfelde).

Khan, A. H., Root infection of *Trametes Pini* Fr. (Indian Forster. Vol. 36. 1910. p. 559—562. 1 pl.)

Gelegentlich des Auftretens von *Trametes Pini* auf *Pinus excelsa* in Indien konnte der Verf. an mikroskopischen Schnitten nachweisen, daß das Mycel des genannten Schädling in die Wurzeln des Wirtes eindringen und hier weiterwachsen kann, ja daß die Hyphen sogar von den Wurzeln auf die Wurzeln der umgebenden gesunden Bäume eindringen können, so daß letztere infiziert werden. Dies ist eine neue Tatsache.

M a t o u s c h e k (Wien).

Mayr, Heinrich, Schüttekrankheit und Provenienz der Föhre (Kiefer). (Forstwissensch. Zentralbl. Jahrg. 33. 1911. p. 1—14). —

Die *Silvestris*-Föhren von Mittel- und Nordeuropa gruppiert Verf. auf Grund früherer und der jetzigen Versuche mit Samengut diverser Provenienz wie folgt:

1) *Schütteste Föhren* liefern Finnland und Norwegen (sog. nordische Fichte). Die jungen Pflanzen erkranken zwar an Schütte unter Rötung der Nadeln, die Basis der Nadel bleibt gesund; die Knospe treibt im nächsten Jahre aus. Selbst unter den ungünstigsten Verhältnissen erliegen nur wenige Proz. der Krankheit. Diese Föhre wächst langsamer als die der nächsten Gruppe.

2) *Schütteeempfindliche Föhren*. Dazu gehören alle Föhren Mitteleuropas bis Rußland und bis zum Rande der Alpen, auch Schottland. Die Krankheit unterbleibt unter noch ungenügend bekannten Verhältnissen ganz oder stellt sich ein bis zum Verlust fast aller Pflanzen. Letzteres ist stets der Fall, wenn mit dem Pilz die Saat künstlich infiziert wird.

3) *Schütteverlorene Föhren*. Hierher gehören die Föhren der Auvergne von Tirol und Nordungarn. Wird das Saatgut dieser Föhren auf den Kahlfächen der deutschen Waldungen verwendet, so stellt sich die Schütte in der verhängnisvollsten Art ein (Tötung, Verkrüppelung). Entgehen sie in Deutschland der Schütte, so liefern sie gute Bestände.

Die Erziehung zu Elitebeständen setzt nicht nur die Föhren der ersten Gruppe voraus, sondern auch eine stetige Beseitigung aller nutzholzuntüchtigen Individuen und eine stetige Verbesserung des Bodens, wie sie aber nicht erzielt wird durch Düngung, durch Bodenbearbeitung oder durch Beibehalten der gegenwärtig herrschenden künstlichen Kahlschlagverjüngung der Föhre. Sie setzt vielmehr voraus die Rückkehr zur Naturverjüngung, die nur erreichbar ist, wenn die Föhrenbestände unkrautfrei und bodenfrisch gehalten werden durch einen Unterwuchs der Buche.

M a t o u s c h e k (Wien).

Haack, Der Schütte-pilz der Kiefer. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwes. Jahrg. 43. 1911. p. 329—357, 402—423. 481—505, m. 2 Taf.).

Eine Monographie des Schütte-pilzes, *Lophodermium Pinastri*. Sie bringt uns einige recht wichtige Ergebnisse:

1) In der Reinkultur, aber auch im Freien, konnte Verf. alle Entwicklungsstadien verfolgen. Die Infektion der Kiefern erfolgt nur durch die Schlauchsporen des Apotheciums und zwar in erheblichem Umfange nur von etwa Mitte Juli bis Ende September. Die Entleerung der Sporen ist eine allmähliche und findet nur bei einer gewissen Feuchtigkeit statt. Regnerische (nasse) Sommer bedingen massenhafte Apothecienbildung. Unter der Glocke zeigten die Sporen schon nach 24 Stunden Keimungserscheinungen. Pyknidenfruktifikation kann schon wenige Wochen nach der Infektion auftreten; Feuchtigkeit begünstigt sie sehr. Conidien dienen zur Verbreitung des Pilzes nicht.

2) Die Sporen werden auf Altholz, wie auf Kulturnadeln gebildet. Die stärkste Sporenentwicklung, die der Höhe der Infektionsgefahr entspricht, findet auf Kulturflächen, die schwächste in gemischten Beständen mit lebhafter Zersetzung der Bodenstreu statt. Verf. unterscheidet eine Ferninfektion (gleichmäßige Infektion über weite Flächen hin durch längere Zeit in der Luft schwebende Sporen) und eine Nahinfektion (lokale Ansteckung in unmittelbarer Nähe sporenverbreitender Nadeln, gegenseitige Ansteckung in sehr dichtstehenden Kulturen). Zur Vermeidung der Infektionsgefahr müssen Saatkämpfe entfernt von schüttenden Kulturflächen (und Dickungen) an der Infektion möglichst wenig ausgesetzter Örtlichkeiten liegen. Reviere, die keine gesunden Pflanzen ziehen können, müssen solche von auswärts beziehen. Wo wenig zur Pflanzenerziehung geeignete Örtlichkeiten vorhanden sind, müssen die Kämpfe wiederholt benutzt werden. Um die Nahinfektion zu vermeiden, darf in den Kämpfen nicht nebeneinander verschult und gesäet werden, nur das beste, gesündeste Material verschult werden, das schlechte (zum Auspflanzen) ungeeignete Material auf der Fläche nicht liegen bleiben, sondern muß verbrannt oder vergraben werden, zumindestens dort, wo auf derselben Fläche ohne Zwischenbau immer wieder Kiefer gezogen werden soll. Auf Freikulturen keine überdichte Saat, an den gefährdetsten Orten Pflanzung statt der Saat! Die Kulturen müssen möglichst rasch und geschlossen aus dem gefährdeten Alter gebracht werden. Da heißt es die Pflanzen nur auf gutem Boden zu ziehen und eine sorgsame Pflege ihnen angedeihen zu lassen (Hacken, Grasschneiden, Spritzen).

3) Über das Spritzen und die Kupferbrühe. In der Verdünnung von 1 : 10 000 kam es noch zur Keimung der Sporen, die Keimschläuche zeigten aber krankhaftes Wachstum. In der Lösung von 1 : 1000 werden Sporen und Mycel getötet. Nur bei Nadeln mehrjähriger Kiefern (welche keinen Wachsüberzug aufweisen) bietet die Kupferbehandlung wirksamen Schutz. Würde man mit Seifenwasser etc. etwa den Wachsüberzug auf der Nadel des Kiefern-sämlings entfernen, um eine Benetzung der Nadel hervorzubringen, so würde das Pflänzchen eingehen, da der Überzug ein unentbehrlicher Schutz gegen zu starke Verdunstung bildet. Das Spritzen ist alle Jahre nötig, die passendste Zeit ist die der Öffnung der ersten Apothecien. Schon die jungen Kulturen spritzt man grundsätzlich, namentlich auf den gefährdeten Stellen.

4) Einige beachtenswerte Daten: Die ersten Anzeichen der Krankheit bemerkt man erst 4—6 Wochen nach der Infektion: eine nicht scharf begrenzte Rotbraunfärbung. Die im Frühjahr abfallenden Nadeln sind es, die

im Spätsommer wieder die Ansteckung verbreiten. Der Schüttepilz ist ein Parasit mit einer wenig streng parasitisch angepaßten Lebensweise; irgendwie verletzte oder nicht gesunde Nadeln werden leichter befallen, als ganz gesunde. Allmählich wird die Kiefer immun gegen den Pilz; von 7.—10. Jahre ist sie gegen die Angriffe ganz gesichert. M a t o u s c h e k (Wien).

Mer, Emile, Le Lophodermium macrosporum, parasite des aiguilles d'épicéa. (Bull. de la Soc. d. Scienc. de Nancy. T. 11. 1910. 59 pp.).

Um die Lücke auszufüllen, die Hartigs Studien über die verschiedenen Krankheitserscheinungen, verursacht durch *Lophodermium macrosporum*, ließen, unternahm Verf. Beobachtungen über die verschiedenartigen Infektionen, die die Fichtennadeln durch diesen Pilz betreffen können.

Verf. unterscheidet zwei Krankheitserscheinungen, die er als α - und β -Form bezeichnet. Die α -Form ist charakterisiert dadurch, daß die befallenen Nadeln am Grunde einen braunschwarzen Ring aufweisen, daß sie nicht abfallen und daß Spermogonien und Perithezien an den noch am Zweige sitzenden Nadeln auftreten. Die Beobachtungen über diese Krankheitsform führten zu dem folgenden Resultat. Die ein Jahr alten Nadeln werden im Mai durch Sporen infiziert, welche aus Perithezien an den zweijährigen Nadeln stammen. Die Spermogonien entwickeln sich Ende Juni bis August. Von dem letzteren Monat an bilden sich die Perithezien, die jedoch erst im Frühjahr des folgenden Jahres reifen. Ihre Sporen infizieren dann wieder andere Nadeln. Die Infektion kann jedoch auch später im Jahre stattfinden durch Perithezien, deren Reifung sich verzögert. Dies ist die Ursache dafür, daß die durch diese verspätete Infektion sich entwickelnden Perithezien nicht mehr im Laufe des folgenden Jahres reifen, sondern erst im Frühjahr des zweitfolgenden. Die Nadeln des Jahrestriebes werden nicht infiziert, ebenso werden nur ausnahmsweise zweijährige Nadeln angegriffen. Solche Nadeln enthalten viel Stärke im Gegensatz zu den gleichalterigen, die im Alter von einem Jahr infiziert wurden, diese sind nicht mehr stärkehaltig. Solange Stärke vorhanden ist, ist das Mycel fein und verläuft es gerade, wenn die Stärke aufgezehrt ist, zeigt sich ein Mycel aus dickeren und gebogenen Fäden.

Von der α -Form unterscheidet sich die β -Form durch das Fehlen des braunschwarzen Ringes am Grunde der Nadeln, durch das Abfallen der Nadeln (Nadelschütte) und durch die Fruktifikation des Pilzes an den bereits abgefallenen Nadeln. Der Gang der Krankheit ist ein sehr langsamer. Nur wenn die Bäume in ihrer Lebenskraft geschwächt sind, schreitet sie schneller vorwärts. Die Nadeln bräunen sich dann bald und fallen schon im ersten Sommer und Herbst ab.

Hartigs zweite Infektionsform, welche durch sehr langsame Verfärbung der Nadeln charakterisiert ist, konnte Verf. in den Vogesen feststellen, allerdings nur sehr selten. Sie kann nicht, wie Hartig meint für seinen Eberswalder Fall, der Trockenheit des Klimas zugeschrieben werden, welche die Keimung der Sporen von Frühling bis zum Herbst verzögert, da das Klima in den Vogesen als ein im allgemeinen feuchtes zu bezeichnen ist. Es handelt sich hier um Infektion durch Sporen von den abgefallenen Nadeln aus der β -Krankheitsform, die erst im Herbst reifen. Eine Unterscheidung der Infektionsformen nach dem Zeitpunkt der Infektion, ob im Frühling oder

im Herbst, ist nicht möglich, denn zwischen der Frühlingsinfektionsform und der Herbstinfektionsform gibt es zahlreiche Mittelformen.

Verf. legt die ziemlich zahlreichen Abweichungen zwischen den Resultaten seiner Untersuchungen und den Beobachtungen Hartigs dar.

Die Ursachen der verschiedenartigen Infektion sind aufzufassen als bedingt durch die verschiedenen Nährverhältnisse. Trifft das Mycel genügend Nährstoffe an, so breitet es sich schnell in der Nadel aus, die α -Form der Krankheit tritt so in Erscheinung. Sind die Nährstoffe der Nadel jedoch aus Mangel an Licht gering, so ist die Entwicklung des Mycels eine langsame, die β -Form resultiert. Wie die Erscheinung zu erklären ist, daß bei der α -Form die Perithezien nur an der Unterseite und bei der β -Form überall an der Nadel gebildet werden, bleibt zweifelhaft.

Nicht nur die unteren Zweige der großen Fichten werden von der Krankheit betroffen, sondern auch junge Pflanzen, sobald sie sich in entkräftetem Zustand befinden. Verf. behandelt den Schaden, den der Pilz anrichtet, und die Vorbeuge- und Heilmittel. E d d e l b ü t t e l (Göttingen).

Kienitz, M., Beitrag zur Frage der Kernholzbildung bei der Kiefer. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwes. Jg. 42. 1910. p. 620 bis 629.)

Selbst in jungen, dichtgeschlossenen Beständen der Kiefer ist Gelegenheit zur Bloßlegung von Kernholz (das bräunlich gefärbte Holz) gegeben, wenn Äste in demselben abgebrochen oder abgeschnitten werden. Diese gebotene Gelegenheit wird trotz der unzähligen Schwammsporen, welche im Laufe des Jahres aufgestreut werden, bei weitem nicht in jedem Falle zu einer Austrocknung des Baumes führen, aber leider genügt ja das Gedeihen einer einzigen Spore auf einer Wundfläche, um den ganzen Baum im Laufe der Jahrzehnte schwammkrank zu machen. M a t o u s c h e k (Wien).

Severini, G., Su le formazioni tubercolari nello *Juniperus communis*. (Annali di Botan. VIII. 1910. p. 253—262.)

Die Tuberkelknoten des Wachholders rühren von kleinen Wunden, insbesondere im Blattspurengewebe her, werden vom Phellogen, nur sekundär vom Kambium erzeugt und enthalten Mycel von *Ceratostoma juniperinum* auch in den ersten Entwicklungsstadien. Das Mycel lebt ausschließlich im Peridermalgewebe und im Phelloderm. Bakterienkolonien und -höhlen kommen nie vor; übrigens läßt sich die Tuberkelbildung durch Impfung des genannten Mycels hervorrufen. P a n t a n e l l i (Rom).

Spaulding, Perley, The rusts of *Tsuga canadensis*. (Phytopathology Vol. 1. 1911. p. 94.)

Peridermium peckii ist der verbreitetste Rost auf *Tsuga canadensis* und *T. caroliniana*. Außer diesem Rostpilz kommen noch zwei andere Roste auf *Tsuga* vor, der eine auf den Schuppen der grünen Zapfen, der andere auf den jungen Trieben von *T. canadensis*; der erstere war vom Verf. *Caeoma tsugae* genannt worden, ist aber schon vorher von Arthur als *Peridermium fructigenum* beschrieben. Der Rost auf den jungen Trieben von *T. canadensis* ist nach Ansicht des Verf. mit *Peridermium fructigenum* identisch.

R i e h m (Gr.-Lichterfelde).

Borgers, Der Ulmensplintkäfer und seine Verbreitung am Niederrhein. (Sitzungsber. d. naturhist. Ver. d. preuß. Rheinlande u. Westfal. Abt. E. 1911. p. 34—43.)

Verf. weist nach, daß bei Krefeld in den letzten 10 Jahren die Ulmenalleen durch den Schädling eingegangen sind. Man ließ zum Glück die verseuchten Ulmen umhauen und die anderen gründlich und ständig genau von geschulten Gärtnern untersuchen. Die nicht befallenen Bäume konnten gerettet werden.
Matouschek (Wien).

Edgerton, C. W., Trochilia populorum Desm. (Mycologia. Vol. 2. 1910. p. 169—173.)

Verf. konnte das Ascus-Stadium genau untersuchen. Er bildet morphologische Details ab und bestätigt die Mitteilung Potebnias, daß die Pilzart zu *Pseudopeziza* gehört. Nur müssen Arten, welche eine dunkle äußere Zellschichte in den Apothecien besitzen, dann als Merkmal der Gattung *Trochilia* verbleiben.
Matouschek (Wien).

Dohrandt, Über die Entblätterung der Alleepappeln am Puschkinboulevard zu Riga. (Korrespondenzbl. d. naturforsch. Ver. Riga. Bd. 53. 1910. p. 125.)

Der Weidenspinner, *Liparis salicis*, war der Schädling. Das Abschaben der Rinde war unnütz, da die an den Stämmen überwinterten Räumchen in den tieferen Rindenritzen unbehelligt sich geborgen hatten. Verf. rät an, die leicht auffindbaren Eierhäufchen mit Raupenleim oder Teer zu betupfen, was Mitte August zu geschehen hat.

Matouschek (Wien).

Neger, F. W., Die Rötung des frischen Erlenholzes. Natur. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtsch. IX. 1911. p. 96—105.)

Um die bekannte Rotfärbung des frisch gespaltenen Erlenholzes zu erklären, stellte Verf. eine Reihe von Versuchen an.

Er tauchte ein frisches Stück Erlenholz zur Hälfte in Wasser ein. Der im Wasser befindliche Teil des Holzes blieb weiß, der dem Sauerstoff der Luft ausgesetzte Teil färbte sich intensiv rot. Mechanischer Druck förderte die Rötung. Das Verhalten einer Reihe von Chemikalien zu dem roten Farbstoff wurde geprüft. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß ausschließlich die lebenden Zellen des Holzgewebes Träger des Farbstoffes sind, und zwar konnte nachgewiesen werden, daß es der Zellinhalt der Markstrahlen-, Holzparenchym- und Ersatzfaserzellen war, der sich bei Sauerstoffzutritt rot färbte.

Der rote Inhaltsstoff der Parenchymzellen erinnert an jene Stoffe, die bei der Wundkernbildung auftreten, mit dem Unterschiede, daß die rote Färbung der Erlenholzzellen auch ohne Zutritt von Organismen allein beim Einwirken von Sauerstoff erfolgt.
W. Herter (Tegel).

Engler, A., Untersuchungen über den Blattausbruch und das sonstige Verhalten von Schatten- und Lichtpflanzen der Buche und einiger anderer Laubhölzer. (Mitt. d. Schweiz. Zentralanst. f. d. forstl. Versuchswes. Bd. 10. 1911. p. 107—188.)

Die eingehende Arbeit umfaßt folgende Abschnitte: 1. Beobachtungen über den Blattausbruch im Walde; 2. Das Verhalten verpflanzter Licht- und

Schattenbuchen; 3. Experimente mit Licht- und Schattenbuchen in Töpfen; 4. Die Beschaffenheit der Licht- und Schattenknospen; 5. Über den Einfluß der Witterung auf den Blattaussbruch; 6. Schlußfolgerungen.

Es kann hier nur über diejenigen Punkte kurz referiert werden, die auch pflanzenpathologisches Interesse bieten. Vergleicht man das Verhalten junger Buchen, die auf freier Fläche aufwuchsen (Lichtbuchen) mit solchen, die unter Bestandesschirm aufwuchsen (Schattenbuchen) nach dem Versetzen, so ergibt sich, daß die Schattenbuchen, wenn sie nachträglich auf freie Fläche verpflanzt werden, etwas besser aushalten als die Lichtbuchen, die in den Schatten kommen. Auffällig ist auch, daß die zuletzt erwähnten Versuchsbäume weit mehr unter *Geometra brumata* und *Orchestes fagi* zu leiden hatten, als die daneben stehenden Schattenbuchen. Was von den verpflanzten Lichtbuchen sich nicht bald an den verminderten Lichtgenuß anzupassen vermag, geht zugrunde und wie Verf. zeigt, sind es nur wenige Individuen, denen diese Anpassungsfähigkeit in genügendem Maße zukommt. „Die Ursache des schlechten Gedeihens der Lichtbuchen unter Schirm ist zweifellos auf schwere Störungen des Assimilationsprozesses und auf die dadurch bedingte ungenügende Ernährung der Pflanzen zurückzuführen. Die Lichtbuche bildet nämlich auch im Schatten dicke Blätter mit hohen Pallisadenzellen und kleiner Spreite, wie im intensiven Licht des Freilandes. Im schwachen, diffusen Licht unter Bestandesschirm ist nun aber ein derartiger anatomischer Bau des Blattes ganz unzweckmäßig, weil die Chlorophyllkörner nicht genügend dem Lichte exponiert werden können und die Pflanze somit nicht einmal das schwache Licht, auf das sie angewiesen ist, auszunutzen vermag.“

Es ist aber auch bekannt, wie sehr die Buchenjungwüchse durch zu starke oder zu rasch aufeinander folgende Nachhiebe oder durch zu frühe Räumung des Altholzes leiden. Von den Fällungsschäden abgesehen, wurden bisher als Folgen einer zu raschen Freistellung der Buchenverjüngungen hauptsächlich die Frostgefahr, Schädigung durch Hitze, Gras- und Unkrautwuchs und der unvermittelte Wechsel der äußeren Verhältnisse überhaupt genannt. Die Versuche des Verf. geben nun über die Art der Schädigung bestimmten Aufschluß. Die jungen Buchen passen im Schatten ihre Zweig- und Blattstellung, den anatomischen Bau der Blätter und die Knospenentfaltung im Frühjahr dem verhältnismäßig schwachen diffusen Lichte an und sie vermögen diese erworbenen Eigenschaften bei Veränderung der Beleuchtung nur allmählich aufzugeben. Setzt man nun die im Schatten aufgewachsenen jungen Buchen plötzlich dem ungeschwächten direkten Sonnenlichte aus, so tritt teilweise Zerstörung des Chlorophylls ein und die dünnen zarten Schattenblätter leiden außerdem in erhöhtem Maße Schaden durch Wind und Hagelschlag. Aber auch die Frostgefahr wird größer, weil die bisher beschatteten Buchen, wie Verf. nachweist, sich früher belauben. Ein weiteres ungünstiges Moment liegt zudem in der plötzlichen Steigerung der Verdunstung. Die jungen Schattenbuchen leiden im direkten Sonnenlichte an Wassermangel, weil ihre Wurzeln den plötzlichen großen Wasserbedarf nicht zu decken vermögen. Ausgesprochene Schattenformen der Buche nehmen nach erfolgter Freistellung zudem nur langsam oder überhaupt nicht mehr die normale schlanke Wuchsform an. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß bei der Verwendung von Schlagpflanzen zu Buchenkulturen große Vorsicht geboten ist. Schattenpflanzen dürfen nicht ins Freie versetzt und ältere Lichtpflanzen nicht zur Umpflanzung verwendet werden. Das Mißlingen oder schlechte Gedeihen vieler Buchenanpflanzungen ist nach dem Verf. auf die Unkenntnis dieser Regel

zurückzuführen. Für die Erziehung aus Samen liegt der Fall dagegen etwas anders. 1- bis 3-jährige, in freien Saatbeeten erzogene Buchen können sowohl ans volle Licht als in den Schatten verpflanzt werden.

O. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Vuillemin, P., Le Blanc du Chêne. (Rev. gén. sc. pures et appliquées. T. 19. 1910. p. 812—816.)

Sicherlich weist das ganze Auftreten des Pilzes auf nichteuropäischen Ursprung. Der Pilz (nach Voglino *Oidium ventricosum* Harkneß), der Schädiger der Eichen, ist in den Küstengebieten des atlantischen Ozeans sicher schon längst aufgetreten, es kam eine starke endemische Periode in Portugal und Westfrankreich, dann nahm die Krankheit plötzlich epidemischen Charakter an und überschritt sogar die Grenzen Europas nach Osten. Dieser ganze Vorgang entspricht den Erysipheen. Klimatische Verhältnisse bringen größte Verbreitung, auf die dann ein oft völliges Verschwinden eintritt. — Dieser Artikel wurde vor der Entdeckung des *Cicinnobolus* veröffentlicht.

Matouschek (Wien).

Peglion, V., Intorno allo svernamento dell'oidio della quercia. (Rendic. Accad. Lincei. Se. 5. T. XX. 1911. I. Sem. p. 505—507.)

Der Eichenmeltaupilz überwintert nach Verf. unter den Knospenschuppen; ähnliches war früher vom Verf. für die Meltauarten der Rose, des Weinstockes, Pfaffenkäppchens und Apfelbaumes erwiesen worden.

Pantanelli (Rom).

Manicardi, C., Anomalia nello sviluppo delle gemme di *Quercus causate* dal parassitismo di *Cnethocampa processionea* S. (Stazioni sperim. agrarie. 43. 1910. p. 912—916).

Der fortgesetzte Blatt- und Knospenfraß durch *Cnethocampa* an Eichen bewirkt nach einigen Jahren echte Knospenvariationen und zwar Cladomanie, Blattschlitzung und Verzwergung; die verbildeten Äste nehmen ein ganz sonderbares Aussehen an.

Pantanelli (Roma).

Sasaki, C., On the life history of *Trioza Camphorae* n. sp. of Camphor tree and its injuries. (Journ. of the Colleg of Agric. Imp. Univ. of Tokio. Vol. 2. 1910. No. 5.)

Verf. gibt eine eingehende Beschreibung von *Trioza Camphorae* n. sp.; Männchen und Weibchen werden genau beschrieben, ebenso die Eier und die Larven in den verschiedenen Entwicklungsstadien. — Die Insekten erscheinen etwa im April; die Weibchen legen ihre spindelförmigen etwa 0,3 mm langen Eier meist an die Unterseite der jungen Blätter von *Cinnamomum Camphora*. Die nach wenigen Tagen ausschlüpfenden Larven häuten sich sehr bald; dann beginnt die Oberfläche der Blätter an der Stelle, wo die Larven sitzen, sich zu wölben und eine gallenartige Erhebung von gelbgrüner Farbe zu bilden. Im Juni sind die Gallen rot gefärbt und haben eine Größe von etwa 2—3 mm im Durchmesser. Auf einem Blatt findet man oft zahlreiche Gallen; diese Blätter fallen frühzeitig ab. Die Blätter sind sorgfältig aufzusammeln; zur Bekämpfung wird auch eine Behandlung der erkrankten Bäume mit Walfischtran und anderen Mitteln empfohlen.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Crawfort, D. L., Castilla Rubber Pests in Mexico. (American Review of Trop. Agricult. 1. 1910. p. 241—247).

Verf. führt eine Reihe von Schädlingen der Kautschukbäumchen *Castilla* (gemeint ist natürlich *Castilloa*) *elastica* an, die im Staate Chiapas, Südmexico, beobachtet worden sind: Termiten, Heuschrecken, Taschenschildkröten, die Cerambycide *Taeniotes suturalis* Thomson und ein Bohrkäfer, der von einer Ichneumonide bewohnt wird.

W. Herter (Tegel).

Bancroft, Keith, A note on the canker of *Hevea brasiliensis*. (Agricult. Bull. of the Straits and Federat. Malay States Vol. 10. 1911. No. 7.)

Die Krebskrankheit an der *Hevea brasiliensis*, die zuerst auf Ceylon auftrat in den Jahren 1903—04, verdankt gleich dem Krebs am Kakaobaum ihren Namen mehr der *Nectria*, der sie zuerst zugeschrieben wurde, als den Krankheitserscheinungen, welche durch sie hervorgerufen werden. Die Symptome sind Aufhören des Fließens der Kautschukmasse, Verfärbung der den Kautschuk liefernden Gewebe bis zur Schwärzung und Verfärbung der inneren Gewebe bis zur Purpurfarbe. Nicht immer ist das Aufhören des Kautschukflusses ein Anzeichen für die Krankheit, Trockenheit und andere nicht leicht zu bestimmende Verhältnisse können die Ursache sein.

Die Krankheit ist in den Malay States noch nicht aufgetreten. Wohl aber ein Schwarzwerden der Früchte, das durch *Phytophthora Faberi* verursacht wird. Infektionsversuche überzeugten Petch davon, daß der Krebs der *Hevea* ebenfalls auf *Phytophthora Faberi* zurückzuführen ist. Seine Resultate lassen jedoch Zweifel, und es bedarf noch weiterer sorgfältiger Untersuchungen.

Nectria diversispora und *Stilbella heveae* werden ebenfalls als Ursachen der Krankheit angegeben. Verf. stellte Untersuchungen darüber an, ob sie als Saprophyten oder Parasiten aufzufassen sind. *Nectria diversispora* kommt auf toten Zweigen vor. Den reifen *Nectria*-fruchtkörpern pflegen weiße Schimmel von einer *Spicaria*- und *Fusarium*-form voranzugehen. Die reifen Ascosporen keimen leicht und ergeben ein Mycel, welches die *Spicaria*-form bildete. In Agar-Agar-Kulturen erzielte Verf. außer dieser fast gleichzeitig die *Fusarium*-Form, die letztere war aus Konidien der *Spicaria* zu erhalten, während Kulturen aus Konidien des *Fusarium* beide Formen ergaben. Die Konidien wurden auf dreierlei Weise zum Infizieren der Bäume verwendet. Sie wurden auf die verletzte Oberfläche, unter die Rinde und ins Holz des Stammes hineingebracht. Auf die zweite und dritte Weise wurden andere Bäume mit Ascosporen infiziert. In keinem Falle zeigte sich eine Krankheitserscheinung, die Wunden heilten.

Stilbella Heveae kommt ebenfalls auf toten Zweigen vor. Mit den Sporen und Mycelien unternahm Verf. gleiche Infektionsversuche ebenfalls ohne Erfolg.

Unter den Anzapfeinschnitten wurde nicht selten eine Mißfärbung des Holzes wahrgenommen. Die Rinde war abgestorben, und auf ihr zeigten sich nach einiger Zeit die Konidienformen von *Nectria diversispora* und die Sporophoren von *Stilbella Heveae*. Die Wunden heilten jedoch bald wieder aus. Verf. hält das Absterben der Rinde und des Holzes für eine Wirkung der Nässe, in Ceylon wurde diese Erscheinung nur in der Regenzeit beobachtet.

E d d e l b ü t t e l (Göttingen).

Orsi, Alois, Krankheiten und tierische Schädlinge an Obstbäumen und deren Bekämpfung. (Mitteil. a. d. Ver. d. Naturfreunde i. Reichenberg. Jahrg. 40. 1911. p. 5—11. m. 1 farb. Taf.)

Behandelt werden: *Exoascus Pruni* F. (farbige Tafel), der durch *Nectria* erzeugte Krebs, die Schorfkrankheit an Äpfel- und Birnbäumen, *Anthonomus pomorum*, *Rhynchites*.

Matouschek (Wien.)

Weese, Josef, Zur Kenntnis des Erregers der Krebskrankheit an den Obst- und Laubholzbäumen. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchsw. in Österr. Jg. 14. 1911. p. 872.)

Verf. stellte auf Krebsbildungen (Eschenkrebs) fest, daß hier nicht *Nectria ditissima* Tul, die nach Aderhold echte Krebswunden erzeugt, vorlag, sondern *Nectria galligena* Bres., dieselbe Art, die auf den Zweiggallen von *Salix purpurea* auftritt und wahrscheinlich deren Ursache sein dürfte. Es wurden sodann Krebsbildungen auf Esche, Äpfel- und Haselnußbäumen untersucht und überall konnte Verf. nur *Nectria galligena* Bres. nachweisen. Wenn es nun für Verf. auch feststehend war, daß nicht *N. ditissima* Tul. sondern *N. galligena* Bres. Krebskrankheiten hervorrufe, so erhielt er schließlich endgültige Sicherheit durch die Untersuchung des Pilzes, der auf einem Apfelbaumkrebs aus dem Versuchsmaterial Aderholds (Kaiserl. Biolog. Anstalt für Land- und Forstwirtschaft in Dahlem bei Steglitz) auftrat. Verf. beschäftigt sich nun mit der vorliegenden Frage in eingehender Weise, gibt eine genaue Beschreibung von *Nectria galligena* Bres. auf Grund eines Original-exemplares, mit Hervorhebung der Unterscheidungsmerkmale von anderen *Nectria*-arten. Für ihn ist es ganz sicher, daß nur die *Nectria galligena* Bres., nie aber die *N. ditissima* Tul. einen Krebs erzeugen kann. Sie dürfte nicht nur offene Krebswunden erzeugen, sondern auch die mehr geschlossenen typischen Krebsknoten auf Obstbäumen verursachen. Bis jetzt ist sie auf Krebsbildungen von Äpfel- und Birnbäumen, von der Esche, Haselnuß und vom Faulbaum nachgewiesen worden, dürfte aber auch noch an anderen Bäumen vorkommen. Der Konidienpilz von *N. galligena* Bres. scheint bis jetzt noch nicht bekannt zu sein. *Fusarium Willkommii* Lindau (Syn.: *Fusidium candidum* Willk.) dürfte, da es nur auf *Fagus* gefunden wurde, zu rechten *N. ditissima* gehören, weshalb auch die Angabe von Appel und Wollenweber, daß *F. Willkommii* den gefürchteten Krebs auf den Laubbäumen erzeuge, nicht richtig sein dürfte. Durch die Verwechslung von *N. ditissima* und *N. galligena*, die ja morphologisch und biologisch deutlich voneinander verschieden sind, sind so manche Widersprüche in der Literatur entstanden. Es bedürfen daher die Versuche, die mit *N. ditissima* gemacht wurden, einer Berichtigung in der Hinsicht, daß genau festgestellt werden muß, ob mit *N. coccinea* (= *N. ditissima*) oder mit *N. galligena* operiert wurde. Der experimentellen Pflanzenpathologie bleiben noch die Fragen zu lösen, ob *N. galligena* die Zweigknoten auf der Purpurweide erzeuge, ob sie auf anderen Weidenarten eine ähnliche oder verschiedene Wirkung nach sich ziehe, ob sie von Weidenkröpfen auf Obst- und Laubholzbäume übertragbar sei oder ob hier eine biologische Art vorliege. Stift (Wien).

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Milch, Molkerei.

- Ackermann, Edwin**, Über die Beziehungen des Lichtbrechungsvermögens und des spezifischen Gewichts des Milchserums. (Ztschr. f. d. Untersuch. d. Nahr.- u. Genußmittel. 1911. Bd. 22. Heft 7. p. 405—408.)
- Burri, R.**, Die schleimbildenden Milchsäurebakterien in der Emmentaler Käseerei. (Allgem. Molkerei-Ztg. 1911. No. 38. p. 297—299.)
- Eck, J. J. van**, Über das Verhalten der Kuhmilchperoxydase beim Erhitzen. (Ztschr. f. d. Untersuch. d. Nahr.- u. Genußmittel. 1911. Bd. 22. Heft 7. p. 393—400.)
- Fettick, Otto**, Milch mit Seifengeschmack. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 21. 1911. Heft 12. p. 389—392.)
- Gorini, Constantino**, Untersuchungen über die saures Lab erzeugenden Kokken des Käses (*Micrococcus casei acidoproteolyticus* 1 und 2). (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. 7. 1911. Heft 10. p. 434—441.)
- Hempel, Walterh.**, Die Hygiene der Milchwirtschaft. (Sächs. landw. Ztschr. 1911. No. 41. p. 536—541. Mit Abbild.)
- Koestler, G.**, Zur Charakterisierung unserer schweizerischen Butterarten. Zugleich ein Beitrag zur Chemie der Butterfabrikation. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1911. Heft 4. p. 249—276.)
- L.**, Die Versorgung der Städte mit pasteurisierter Milch. 2. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 21. 1911. No. 42. p. 493—494.)
- Peter, A.**, Einige praktische Erfahrungen und Beobachtungen im Käseerei- und Molkereibetrieb. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 21. 1911. No. 45. p. 529—530.)
- Report of Committee on regulations for the pasteurization of milk. (Journ. American med. assoc. Vol. 57. 1911. No. 12. p. 975.)
- Rocchi, G.**, Serodagnostische Untersuchungen über die wichtigsten anaëroben Buttersäurekeime mit der Methode der Agglutination und der Komplementablenkung (Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. Heft 6. p. 579—581.)
- Staub, W.**, Über die Ursache der rotbraunen Rindenfärbung bei Emmentaler Käsen. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1911. Heft 6. p. 371—380.)
- Tartler, Georg**, Streptokokken in der Milch. (Landw. Umschau. 1911. No. 41. p. 967—971.)
- Tillmans, J.**, Vereinfachung des Verfahrens zur Bestimmung von Salpetersäure in der Milch mit Diphenylamin-Schwefelsäure. (Ztschr. f. d. Untersuch. d. Nahr.- u. Genußmittel. 1911. Bd. 22. Heft 7. p. 401—405.)
- de Vries, Otto**, Über den Gebrauch großer Mengen Reinkultur (Säurewecker) bei der Bereitung von Edamerkäse. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 21. 1911. No. 40. p. 469—470.)
- Wolff, A.**, Molkereibakteriologie und Milchwirtschaft auf der internationalen hygienischen Ausstellung in Dresden. (Landw. Wehnbl. f. Schlesw.-Holstein. 1911. No. 40. p. 783—786.)
- , Die Molkereibakteriologie auf der Hygiene-Ausstellung in Dresden. (Milch-Ztg. Jg. 40. 1911. No. 44. p. 435—437.)
- Wolf, Hans**, Vergleichende Untersuchungen über reduzierende und Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Wirkung einiger Milchbakterien der 1., 2. und 3. Gärungsphase (nach K o n i n g). Diss. med. Gießen 1911. 8°.

Wein, Weinbereitung.

- Halenke u. Krug**, Vergleichende Versuche über den Säurerückgang in ungezuckerten und gezuckerten Weinen des Jahrgangs 1909 aus dem Weinbaugebiet der Pfalz. II. Mitteilung. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. 1911. Bd. 39. p. 450—470.)
- Kroemer, K.**, Versuche über den Einfluß der schwefligen Säure auf die Gärungserreger des Mostes. (Ber. d. Kgl. Lehranstalt f. Wein- usw. Bau zu Geisenheim. Für 1910. Berlin (P. Parey) 1911. p. 137—141.)
- Langlade, M.**, Les vins incomplètement fermentés. (Moniteur vinicole. Année 56. 1910. No. 77. p. 306.)
- Omeis, Th.**, Versuche und Untersuchungen zur Erforschung des Säurerückganges im

Weine. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1911. Bd. 39. p. 434—450.)
 Weinbau und Vogelschutz. (Der Weinbau. Jg. 10. 1911. No. 10. p. 158—159.)

Bier, Bierbereitung.

Bericht über die Tätigkeit der Versuchsstation und Akademie für Brauindustrie vom 1. Okt. 1909 bis 30. Sept. 1910. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 39. 1911. No. 44. p. 500—503.)
Huß, O., Das Nathansche Bierherstellungsverfahren auf dem Brauertag in Prag. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 39. 1911. No. 45. p. 513—514.)
Pankrath, O., Beziehungen zwischen Maischendicke und Endvergärung. (Wehnschr. f. Brauerei. 1911. No. 40. p. 461—467; No. 41. p. 491—494.)
von der Planitz, Hans, Neuer Pasteurisierapparat. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. 28. 1911. No. 40. p. 478. 1 Fig.)
Rinckleben, P., Gewinnung von Zymase aus frischer Brauereihefe durch Plasmolyse. (Chemiker-Ztg. 1911. No. 123. p. 1149—1150.)
Schlesinger, Julius, Ein weiterer Beitrag zur biologischen Untersuchung von Brauwasser. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. 39. 1911. No. 42. p. 474—475.)
Schönfeld, F., u. **Hirt, W.**, Die Änderung des Säuregehaltes in ihrer Rückwirkung auf die Haltbarkeit des Bieres. (Wehnschr. f. Brauerei. 1911. No. 40. p. 467—472; No. 41. p. 489—491.)

Andere Nahrungsmittel.

v. Fenyvessy, B., u. **Dienes, L.**, Ist das gebackene Brot steril? (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 69. 1911. Heft 1. p. 223—224.)
Kayser, E., et **Delavel, H.**, Contribution à l'étude du pain visqueux. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 12. p. 576—578.)
Majmone, Bartolo, Una frequente alterazione delle conserve di pomodoro. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno 22. 1911. No. 17. p. 518—524.)
Neumann, M. P., u. **Knischewsky, O.**, Über das Fadenziehen des Brotes. (Ztschr. f. d. ges. Getreidewesen. Jg. 3. 1911. No. 9. p. 187—191.)
Schneider-Orelli, O., Versuche über die Wachstumsbedingungen und Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1911. Heft 3. p. 225—246.)
Schultze, W., Dauerwarenprüfungen durch die Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft. (Desinfektion. Jg. 4. 1911. Heft 10. p. 475—483.)
Serger, H., Die chemischen Konservierungsmittel. II. (Chemiker-Ztg. 1911. No. 123. p. 1150—1152; No. 125. p. 1166—1168; No. 128. p. 1194—1195; No. 129. p. 1202—1203.)
Wedemann, Neue Desinfektions- und Konservierungsmittel. (Desinfektion. Jg. 4. 1911. Heft 11. p. 536—539.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Aulmann, G., Schädlinge an Kulturpflanzen aus deutschen Kolonien. (Mitt. a. d. Zool. Mus. Berlin. Bd. 5. 1911. Heft 2. p. 259—273; Heft 3. p. 421—450. 28 Fig.)
Bandys, E., Epidemisches Auftreten der Uredineen im Jahre 1910 in Nordböhmen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 5. p. 287—288.)
Broz, Otto, Der Getreidebrand und seine Bekämpfung. (Mit 9 Abbild.) (Monatshefte f. Landw. 1911. Heft 10. p. 289—293.)
Detmann, H., Phytopathologische Mitteilungen aus Österreich. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 3. p. 154—156.)
 —, Berichte über Landwirtschaft und Pflanzenkrankheiten in Indien. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 3. p. 157—158.)
Doby, G., Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 1/2. p. 10—17; Heft 6. p. 321—336.)
Eriksson, Jakob, Die rote Farbe der Fruchtschale und die Schorfkrankheit der Obstsorten. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 3. p. 129—131. 2 Fig.)
v. Faber, F. C., Über das ständige Vorkommen von Bakterien in den Blättern verschiedener Rubiaceen. (Vorläufige Mitteilung.) [3 S.] (Bull. du département de l'agric. aux Indes Néerlandaises. 1911. No. 46.)
Faes, H., Nouvelles recherches sur le développement et le traitement du mildiou. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 933. p. 489—493.)
Fulmek, Leopold, Thrips flava Schr. als Nelkenschädling und einige Bemerkungen über

- Nikotinräucherversuche in Glashäusern. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 5. p. 276—280. 3 Fig.)
- Grevillius, A. Y.**, Über verbildete Sproßsysteme bei *Asparagus Sprengeri* Regel. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 1/2. p. 17—27. 7 Fig.)
- Hegy, D.**, Der Wurzelbrand der Zuckerrübe und seine Verhütungsmaßregeln. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 5. p. 269—276.)
- Hiltner**, Einige neuere Erfahrungen über Blatt- und Blattläuse. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. 1911. Heft 9/10. p. 133—135.)
- v. Jaczewski, A.**, Über Verbreitung der Pilzkrankheiten in Rußland im Jahre 1909 (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 5. p. 281—286.)
- Knischewsky**, Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 4. p. 216—225.)
- La Baume**, Der Traubenwickler (Heu- und Sauerwurm) und seine Bekämpfung. (Prometheus. 1911. Jg. 22. No. 48. p. 75—3755.)
- Labergerie**, La grêle et les paragrêles. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 933. p. 493—497. 1 Fig.)
- Laubert, R.**, Noch einmal: Der Blasenrost der Kiefer (Kienzopf), seine Bedeutung und Bekämpfung. (Mit Abbild.) (Deutsche landw. Presse. 1911. No. 86. p. 983.)
- Müller-Thurgau, H.**, Comment la vigne est-elle infectée par le mildiou? (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 930. p. 405—410.)
- Nemec, B.**, Über die Nematodenkrankheit der Zuckerrübe. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 1/2. p. 1—10.)
- Ranojevic**, Die in Serbien in den Jahren 1906—1909 beobachteten Pflanzenkrankheiten und Schädlinge. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 1/2. p. 42—49.)
- Reh**, Kleinere Arbeiten über tierische Pflanzenfeinde in Nordamerika. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 21. 1911. Heft 4. p. 226—228.)
- , Zuckerrohrinsekten auf Hawai. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 5. p. 280—281.)
- Sajo, Karl**, Der ärgste Feind der Apfelbäume. (Mit 4 Abbild.) (Prometheus. 1911. Bd. 22. No. 49. p. 769—773; No. 50. p. 792—796.)
- Schander**, Die diesjährige Blattlausepidemie. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1911. No. 18. p. 305—311.)
- Schmidt, Hugo**, Eine neue Blattlausgalle an *Crataegus Oxyacantha* L. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 3. p. 133—135. 2 Fig.)
- Schwangart**, Ein neuer Feind des Heu- und Sauerwurms. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. 6. 1911. No. 11. p. 347—349.)
- Schwangart, F.**, Der Traubenwickler (Heu- und Sauerwurm) und seine Bekämpfung. Berlin (Springer) 1911. 4 p. 1 Taf. (Flugbl. d. K. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. 49.)
- Solla**, In Italien während 1908—1909 aufgetretene Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 6. p. 345—348.)
- Sorauer, Paul**, Nachträge. 1. Tumor an Apfelbäumen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 1/2. p. 27—36. 2 Taf.)
- , Nachträge. 2. Bittere Pflaumen; 3. Intureszenz und Aurigo bei Araliaceen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 3. p. 145—146; Heft 6. p. 336—341. 1 Fig.)
- Ständer**, Verschiedene Auswinterung von Roggen und Weizen in harten, mittleren und milden Wintern. (Deutsche landw. Presse. 1911. No. 81. p. 929.)
- Störmer, K., u. R. Kleine**, Die Getreidefliegen, mit besonderer Berücksichtigung ihrer wirtschaftlichen Bedeutung und der Abhängigkeit ihres Auftretens von Witterungsverhältnissen. (Mit 7 Abbild.) (F ü h l i n g s landw. Ztg. 1911. Heft 20. p. 682—703.)
- Vermorel, Victor**, Mildiou, Ochyliis, Eudémis. Conseils pratiques pour la défense de la vigne. Paris 1911. 2 Taf. u. Fig. 1 .K.
- Voges, Ernst**, Pathologische Pilzbildungen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 4. p. 207—213. 5 Fig.)
- Werth, Emil**, Zur Biologie des Antherenbrandes. (Arb. a. d. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. 1911. Bd. 8. Heft 3. p. 427—447.)
- Wolff, Max**, Die tierischen Schädlinge der in Deutschland angebauten Weiden (*Salix* sp.). Posen 1911. 11 p. 8^o. (Flugbl. d. Abt. f. Pflanzenkr. Bromberg. No. 15.)
- Zimmermann, H.**, Über die Lebensdauer des Gerstenflugbrandes (*Ustilago Hordei*) in infiziertem Saatgute. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 3. p. 131—133.)
- , Über das Massenaufreten namentlich schädigender Insektenformen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 5. p. 257—269.)
- , Über das Auftreten der Wintersaateule in Mecklenburg. (Mit Abbild.) (Deutsche landw. Presse. 1911. No. 82. p. 939.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Pflanzenschutz.

- Appel, O., u. Riehm, E.**, Die Bekämpfung des Flugbrandes von Weizen und Gerste. (Mit 1 Taf. u. 2 Textabbild.) (Arb. a. d. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. 1911. Bd. 8. Heft 3. p. 343—424.)
- —, Die Bekämpfung des Flugbrandes von Gerste und Weizen. Berlin (Springer) 1911. 4 p. 2 Fig. (Flugbl. d. K. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. 48.)
- Armbrustmacher**, Zur Bekämpfung des Steinbrandes. (Deutsche landw. Presse. 1911. No. 85. p. 976.)
- Bugge**, Bekämpfung der Feldmäuse. (Landw. Wehnbl. f. Schlesw.-Holstein. 1911. No. 43. p. 835—838.)
- Cazeaux-Cazalet**, Essais de destruction de la *Cochylis* et de la *Pyrale*, à Avize, par les pièges lumineux. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 931. p. 448—453.)
- Hiltner u. Korff**, Die Bekämpfung der Feldmausplage. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. 1911. Heft 9/10. p. 128—133.)
- v. Jaczewski, A.**, Neuere Erfahrungen auf dem Gebiete der Bekämpfung der Pilzkrankheiten in Rußland. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 3. p. 135—145. 3 Fig.)
- Kulisch, P.**, Die Darstellung haltbarer Kupferbrühen zur Bekämpfung der *Peronospora*. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. 21. 1911. Heft 6. p. 382—384.)
- Neumann**, Erfahrungen bei der Rebenschädlingbekämpfung an der Mosel im Jahre 1911. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. 1911. No. 10. p. 212—214.)
- de Saint-Charles, F.**, La défense des vignes contre la grêle en Beaujolais. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 932. p. 475—477.)
- Störmer, K.**, Über die Bekämpfung des Steinbrandes beim Winterweizen. (Deutsche landw. Presse. 1911. No. 80. p. 917; No. 81. p. 929.)
- , Die Bekämpfung der Streifenkrankheit und des Flugbrandes bei der Wintergerste. (Landw. Wehnshr. f. d. Prov. Sachsen. 1911. No. 39. p. 323—325.)
- Über die Bekämpfung der Rebenschädlinge und die Biologie. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. 6. 1911. No. 11. p. 349—351.)

Inhalt.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

- Aus der pflanzenphysiologischen und -pathologischen Abteilung der Schweizerischen Versuchsanstalt in Wädenswil.
- Schneider-Orelli, O.**, Versuche über die Wachstumsbedingungen und Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes, p. 161.
- Aus dem Kaiser-Wilhelms-Institut f. Landwirtschaft in Bromberg.
- Vogel**, Ammoniak- und Salpeterassimilation durch Mikroorganismen des Bodens, p. 169.
- Aus der wissenschaftl. Station f. Brauerei in München.
- Will, H.**, Betrachtungen zur biologischen Untersuchung von Brauwasser, p. 179.
- Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.
- Schroeter, O.**, Vergleichende Prüfung bakteriologischer und biochemischer Methoden zur Beurteilung der Milch, p. 181.

Originalberichte über Kongresse, Versammlungen etc.

- Gesellschaft amerikanischer Bakteriologen.
- Beckwith, T. D.**, Ein halophytischer *Diplococcus*, p. 193.
- Breed, R. S. und Stedger, J. Read**, Die normale Zahl von Körperzellen in Kuhmilch, p. 196.
- Conn, H. J.**, Bakterien im gefrorenen Boden, p. 198.
- Conn, H. W.**, Die Bakterienflora der Milch, p. 195.
- Edwards, S. F.**, Lebensfähigkeit des *Ps. radicola* auf Maltoseagar, p. 199.
- Gage, Stephen de M.**, Untersuchungen über Nährböden für die Keimzählung in Wasser, Abwasser usw., p. 200.
- Harding, H. A.**, Über den Wert bakteriologischer Keimzählungen bei der Kontrolle städt. Milchversorgungen, p. 196.
- und **Wilson, J. K.**, Beziehungen zwischen der Form des Melkeimers und dem Keimgehalt der Milch, p. 195.
- Moore, V. A.**, Ansprache des Präsidenten über die Bakteriologie in der allgemeinen Erziehung, p. 193.
- Parsons, Payn, B.** Apparat zur Entnahme von Wasser aus größerer Tiefe, p. 197.
- , Bakterien im Wasser des New-Yorker Hafens, p. 197.

- , Die Stärke der Verunreinigung gemessen nach der Zahl der Bakterien, p. 197.
- Rahn, Otto**, Der Einfluß von Quarzsand auf Bakterienkulturen, p. 201.
- , Über die Gärkraft der einzelnen Bakterienzelle (*Bacterium lactis acidii*), p. 193.
- Rogers, L. A.**, Die Verwendung von Gärproben bei der Untersuchung von Milchsäurebakterien, p. 195.
- Sullivan, M. H.**, Biochemische Faktoren im Boden, p. 198.
- Wilson, J. K.**, Untersuchungen über die Desinfektion von Grassamen, p. 201.
- und **Harding, H. A.**, Eine Methode, um Bakterien von wachsenden Pflanzen abzuhalten, p. 202.

Vortrag, gehalten bei der Eröffnung des 5. internationalen milchwirtschaftlichen Kongresses in Stockholm.

Jensen, O., Der jetzige Stand der Käse- reifungsfrage, p. 202.

Landwirtsch. Sektion des 11. Kongresses polnischer Ärzte und Naturforscher in Krakau.

Niklewski, Bronislaw, Bodenbakteriologische Beobachtungen als Mittel zur Beurteilung von Böden, p. 209.

Referate.

- Appel, O.**, Zur Kenntnis der Bakterienfäule der Kartoffel, p. 319.
- u. **Schlumberger, O.**, Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten, p. 324.
- , —, Zur Kenntnis der Blattrollkrankheit der Kartoffel, p. 321.
- Babcock, S. M.**, Über die Anwendung niedriger Temperaturen bei der Behandlung von Käse und bei dessen Aufbewahrung, p. 250.
- Bainier, G.**, Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie. XXXI, p. 278.
- Bancroft, Keith**, A bacterial disease of potato and tomato, p. 319.
- , A note on the canker of *Hevea brasiliensis*, p. 342.
- Bargmann**, Warum verschwinden Tannensaaten und Tannenanflug so oft wieder? p. 332.
- Behrens, W. u. Marpmann, G.**, Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln, p. 326.
- Bersch, Wilhelm**, Hefen, Schimmelpilze und Bakterien, p. 222.
- Bönisch, E.**, Zersetzung und Wirkung organischer Stickstoffdünger, p. 274.
- Borgers**, Der Ulmensplintkäfer und seine Verbreitung am Niederrhein, p. 339.
- Boselli, J.**, Etude de l'inulase d'*Aspergillus niger*, p. 231.

- Brick, C.**, Über Kartoffelkrankheiten, p. 315.
- Briosi, Giovanni**, Rassegna crittogamica per il primo semestre dell' anno 1907 con notizie sul carbone e la carie dei cereali, p. 276.
- , Rassegna crittogamica dell' anno 1909 con notizie sulle malattie dei trifogli e delle vecchie causate da parassiti vegetali, p. 276.
- Bruhn, Walter**, Beitrag zur Flora des Kiefernwaldes und zur Wuchsform der Kiefer (*Pinus silvestris*), p. 332.
- Brux**, Pflanzenimpfversuche der landw. Kreiswinterschule Traunstein, p. 262.
- Busse, W., Peters, L. u. Ulrich, P.**, Über das Vorkommen von Wurzelbranderregern im Boden, p. 305.
- Butler, E. D.**, Potato blight (*Phytophthora infestans*), p. 327.
- Carbone, D.**, Su la decomposizione aerobica della cellulosa, p. 252.
- e **Rusconi, M.**, Attorno ad alcune attività di un *Penicillium*, p. 231.
- , —, Su la scissione dell' acido ippurico per opera dei microorganismi dei salumi, p. 243.
- International Catalogue of Scientific Literature, p. 222.
- Coker, W. C.**, A new host and station for *Exoascus filicinum*, p. 292.
- Cook, Melville Thurston and Taubenhaus, J. J.**, The relative of parasitic fungi to the contents of the cells of the host plants, p. 291.
- , **Bassett, H. P., Thompson, Firman and Taubenhaus, J. J.**, Protective enzymes, p. 235.
- Crawfort, D. L.**, Castilla Rubber Pests in Mexico, p. 341.
- Currie, J. R.**, Experiments in the storage of river waters, p. 247.
- Dafert, F. W.**, Bericht über die staatlichen Maßnahmen anlässlich des Auftretens und der Verbreitung der Blattrollkrankheit der Kartoffel in den Jahren 1908—1910, p. 322.
- Dean, W. Harper**, The Sorghum Midge (*Contarinia* [*Diplosis*] *sorghicola* Cog.), p. 301.
- De Grazia, S.**, Su l' intervento dei microorganismi nell' utilizzazione dei fosfati insolubili del suolo da parte delle piante superiori, p. 270.
- Dietel, P.**, Einige Bemerkungen zur geographischen Verbreitung der Arten aus den Gattungen *Uromyces* und *Puccinia*, p. 284.
- Dobell, C. Clifford**, Contributions to the cytology of the Bacteria, p. 227.
- Doby, G.**, Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. I. Die Oxydasen der ruhenden Knollen, p. 321.
- Dohrandt**, Über die Entblätterung der

- Alleepappeln am Puschkinboulevard zu Riga, p. 339.
- Doidge, Ethel M.**, The flora of certain Kaffir beers „Leting and Joala“, p. 248.
- Doroguiné**, Une maladie cryptogamique du Pin, p. 333.
- Dox, Arthur W.**, The Phosphorus Assimilation of *Aspergillus niger*, p. 231.
- Ducomet, V.**, Recherches sur quelques maladies de plantes cultivées, p. 288.
- Duggar, B. M.**, Physiological plant pathology, p. 287.
- Edgerton, C. W.**, *Trochilia populorum* Desm., p. 339.
- Engler, A.**, Untersuchungen über den Blattausbruch und das sonstige Verhalten von Schatten- und Lichtpflanzen der Buche und einiger anderer Laubhölzer, p. 339.
- Eriksson, A.**, Über die Hemmung der Invertinwirkung, p. 238.
- Eriksson, Jakob, F.** Zachs zytologische Untersuchungen über die Rostflecken des Getreides — und die Mycoplasma-theorie, p. 294.
- Euler, H. und Lundequist, G.**, Zur Kenntnis der Hefegärung, p. 233.
- Euler, H. und Kullberg, S.**, Über das Verhalten freier und an Protoplasma gebundener Hefenenzyme, p. 233.
- Euler, H. und Fodor, A.**, Zur Kenntnis des Hefengummis, p. 234.
- Evans, J. B. Pole**, South African cereal rusts, with observations on the problem of breeding rust-resistant wheats, p. 297.
- Feist, K.**, Nachweis einer Schädigung von Fichten durch Röstgase, p. 331.
- Felsing, L.**, Stickstoffbindung und -entbindung, p. 267.
- Fettick, O.**, Erdbeergeruch erzeugendes Bacterium (*Pseudomonas fragarioidea* Huß) als Ursache eines Milchfehlers, p. 230.
- Fraser, W. P.**, Cultures of some heteroecious rusts, p. 283.
- Fron, G.**, Maladie du Pinus strobus déterminée par *Lophodermium brachysporum* Rostrup, p. 331.
- Fuchs, Oskar**, Beiträge zur Biologie des Rüben nematoden, *Heterodera schachtii*, p. 312.
- Fulmek, Leopold**, Die Rüben nematode (*Heterodera schachtii* Schm.), ihre Naturgeschichte und Bekämpfung, p. 314.
- Gerber, C.**, Action des sels des métaux du groupe aurique sur la saccharification de l'empois d'amidon par les ferments amylolytiques, p. 252.
- Gironcourt, G. de**, Sur le fromage de Touareg, p. 251.
- Goverts, W. J.**, Über Spargelkäfer, p. 302.
- Griffon, E. et Maublanc, A.**, Deux Moisissures thermophiles, p. 232.
- , —, Notes de pathologie végétale, p. 287.
- Grimmer, W.**, Bemerkungen zu der Arbeit von W. D. Kooper, Untersuchungen über Katalase, p. 242.
- , Zur Kenntnis der Milchperoxydase, p. 250.
- Günther, H. K.**, Keim- und Anbauversuche mit naturellen und präparierten Rübensamen, p. 308.
- Gutzeit, Ernst**, Über die angebliche Vermehrung der Bakterien in der Milch durch mechanische Einwirkung, p. 248.
- Haack**, Der Schüttepliz der Kiefer, p. 336.
- Haid, R.**, Die Vorteile der Reinhefe bei der Vergärung von stark geschwefeltem Most, p. 248.
- Hamann**, Die Blattrollkrankheit der Kartoffeln, p. 320.
- Hamsik, A.**, Zur Kenntnis der Pankreaslipase, p. 241.
- Heald, F. D.**, *Rhizoctonia medicaginis* in Amerika, p. 302.
- Hedin, G.**, Über das Labzymogen des Kalbsmagens, p. 236.
- Hegy, D.**, Der Wurzelbrand der Zuckerrübe und seine Verhütungsmaßregeln, p. 305.
- Heinricher, E. u. Elsler, E.**, *Pachyma Cocos* Fr. Ein interessanter Pilzfund für Tirol, p. 281.
- Heinze, B.**, Über die Mitwirkung und den praktischen Wert der Mikroorganismen bei der Stickstoff-Versorgung des Bodens und der Pflanzen, p. 261.
- , Kalkstickstoff und Kalksalpeter als Stickstoffdünger, p. 269.
- Herter, W.**, *Autobasidiomycetes*, p. 285.
- Herzog, O. und Ripke, O.; Herzog, O., Ripke, O. und Saladin, O., und Herzog, O. und Saladin, O.**, Über das Verhalten einiger Pilze zu organischen Säuren, p. 224.
- Hiltner**, Welches sind die Ursachen der geringen Kartoffelernte 1910 und welche Maßnahmen sind in Zukunft vorzusehen? p. 318.
- Höhnelt, J. von**, Mykologische Fragmente. C. XVIII. Über die Gattung *Hyalodema*, p. 278.
- Honcamp**, Untersuchungen über die Wirkung der Brandsporen im Futter und im Dünger, p. 296.
- Horne, A. S.**, On potato „leaf blotch“ and „leaf curl“, p. 327.
- Hotter, Herrmann u. Stumpf**, Studien und Versuche über den Wert der Wurzelrückstände verschiedener Kulturpflanzen als Stickstoffsammler und Gründünger, p. 262.
- Jennings, H.**, Das Verhalten der niederen Organismen unter natürlichen und experimentellen Bedingungen, p. 226.
- Itis, Hugo**, Über eine durch Maisbrand verursachte intracarpellare Prolifikation bei *Zea mays* L., p. 299.
- Johnston, John R.**, Is *Bacillus coli* ever a plant parasite? p. 281.

- Juel, O.**, Notizen über Parasitenpilze, p. 277.
- Kayser, E.**, Influence des humates sur les microorganismes, p. 266.
- u. **Delaval, H.**, Contribution e l'étude du pain visqueux, p. 243.
- Keißler, K. von**, Micromycetes, p. 280.
- Keißler, Karl von**, Zwei neue Flechtenparasiten aus Steiermark, p. 292.
- Kellerman, K. F.**, Nitrogen Gathering Plants, p. 268.
- Kern, F. D.**, Two new species of Uromyces, p. 283.
- Khan, A. H.**, Root infection of Trametes Pini Fr., p. 335.
- Kienitz, M.**, Beitrag zur Frage der Kernholzbildung bei der Kiefer, p. 338.
- Kießling**, Untersuchungen über die Keimreifeung der Getreide, p. 292.
- Köck, Gustav**, Beobachtungen über den Befall verschiedener Kirschen- und Weichelsorten durch den Moniliapilz (*Sclerotinia cinera* [Bon] Schröt.), p. 284.
- , Die Blattrollkrankheit der Kartoffel, p. 319.
- u. **Kornauth, K.**, Studien der Ursache der Blattrollkrankheit der Kartoffel und über die Möglichkeit der Übertragung dieser Krankheit durch das Saatgut und den Boden, p. 322.
- König, J., Kuhlmann, J. und Thiene-mann, A.**, Die chemische Zusammensetzung und das biologische Verhalten der Gewässer, p. 244.
- Kövessi, F.**, Nouvelles recherches sur la prétendue utilisation de l'azote de l'air par certains poils spéciaux des plantes, p. 257.
- Kooper, W.**, Untersuchungen über die Katalase, p. 241.
- Kossowicz, A.**, Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie, p. 243.
- , Einführung in die Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe, p. 242.
- Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen im Jahre 1909.** Zusammen-gestellt in der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, p. 289.
- Kühl, Hugo**, Zur Charakteristik des Aspergillus glaucus Link., p. 231.
- Küster, Ernst**, Über Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse, p. 291.
- Kufferath, H.**, Note sur les tropismes du Bact. Zopfii Kurth, p. 230.
- Lafar**, Handbuch der technischen Mykologie, p. 217.
- La Garde**, Über Aerotropismus bei Schimmelpilzen, p. 230.
- Laubert, R.**, Bittere Melonen, p. 330.
- , Die Corynespora-Blattfleckenkrankheit der Gurke, ihre Verbreitung und Bekämpfung, p. 329.
- Lebedeff, A.**, La zymase est-elle une diastase? p. 238.
- Lemcke, A.**, Getreideschädlinge, p. 294.
- Lemmermann, Einecke u. Fischer**, Untersuchungen über die Wirkung eines verschiedenen Verhältnisses von Kalk und Magnesia in einigen Böden auf höhere Pflanzen und Mikroorganismen, p. 265.
- , **Förster u. Einecke**, Untersuchungen über das Kalkbedürfnis der Ackerböden auf Grund von Bodenuntersuchungen und Vegetationsversuchen, p. 263.
- Lemoigne**, Bactéries dénitrifiantes des lits percolateurs, p. 266.
- Lewis, Charles E.**, Occurrence of Monascus Barkeri in bottled pickles, p. 232.
- Lind, J.**, Systematic List of Fungi (Micromycetes) from North-East Greenland, collected by the „Danmark-Expedition“ 1906—1908, p. 278.
- Lindau, G.**, Die Kenntnis der durch Fusariumarten hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten, p. 285.
- , Über Wanderungen parasitischer Pilze, p. 281.
- Linossier, G.**, Influence du fer sur la formation des spores de l'Aspergillus niger, p. 230.
- Lipman, Jakob G.**, Suggestions concerning the terminology of soil bacteria, p. 266.
- Lippmann, O. von**, Ein Vorkommen von d-Galaktose, p. 239.
- Löhnis**, Landwirtschaftlich - bakteriologisches Praktikum, p. 222.
- Maire, R. et Tison, A.**, Nouvelles recherches sur les Plasmodiophoracées, p. 328.
- Mameli, Eva e Pollacci, G.**, Su l'assimilazione diretta dell' azoto atmosferico libero nei vegetali, p. 257.
- Manicardi, C.**, Anomalie nello sviluppo delle gemme di Quercus causate dal parassitismo di Cnethocampa processionea S., p. 341.
- Marcas, L. et Huyge, C.**, Origine de l'ammoniaque dans le lait. Interprétation de sa présence, p. 248.
- Massart, J.**, Sur les ronds de sorcière de Marasmius Oreades Fries, p. 287.
- Massee, G.**, Fungi exotici. XI, p. 279.
- Matějka, Franz**, Krankheiten forstlicher Holzgewächse. Vorlesungen für Forstlehranstalten. I. Teil [Tschechisch], p. 331.
- Mayor, Eug.**, Recherches expérimentales sur quelques Urédinées hétéroiques, p. 282.
- Mayr, Heinrich**, Schüttekrankheit und Provenienz der Föhre (Kiefer), p. 335.
- Mazé**, Recherches sur la formation d'acides nitreux dans la cellule vivante, p. 258.
- Mencl, Em.**, Nachträge zu den Kernstrukturen und Kernäquivalenten bei Bakterien, p. 224.
- Mensio, C.**, Il Moscato d'Asti spumante. II, p. 247.

- Mer, Emile**, Le Lophodermium macrosporum, parasite des aiguilles d'épicéa, p. 337.
- Meyer, K.**, Über Anti-Bakterienproteasen, p. 239.
- Michaelis, L. und Davidsohn, H.**, Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin, p. 239.
- Miczyński, R.**, Der Einfluß des Steinbrandes auf die Form der Weizenähren, p. 300.
- Molliard, De l'action du Marasmius Oreades Fr. sur la végétation**, p. 287.
- Montemartini, L.**, La fioritura precoce delle barbabietole, p. 311.
- Mooser, Biologisch-chemische Vorgänge im Erdboden**, p. 252.
- Mortensen, M. L.**, Über die durch Fusarien hervorgerufenen Getreidekrankheiten. [Dänisch], p. 293.
- u. **Rostrup, Sofie**, Monatliche Übersichten über die Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen [Dänisch], p. 288.
- , — u. **Kølpin Ravn, F.**, Übersicht über die Krankheiten der Kulturgewächse im Jahre 1910 [Dänisch], p. 289.
- Müntz, A. et Lainé, E.**, Sur les pertes de l'azote au cours de l'épuration de l'eau par les lits bactériens, p. 246.
- , Les phénomènes d'épuration des eaux d'égout par le Sol et par les lits bactériens, p. 246.
- Munerati, O.**, La Sphacelotheca reiliana Kühn nel Sorghum halepense, p. 301.
- Muth, Fr.**, Über das Verhalten der Gurken in diesem Sommer, p. 329.
- Namysłowski, Bolesł.**, Beitrag zur Kenntnis der Rostpilze [Polnisch], p. 282.
- Nazari, V.**, Azione di alcune ossidasi artificiale e di diversi composti metallici su la germinazione e su l'accrescimento delle piante, p. 237.
- Neger, F. W.**, Die Rötung des frischen Erlenholzes, p. 339.
- Némec, B.**, Über eine Chytridiacee der Zuckerrübe, p. 306.
- , Die Rüben nematode, p. 311.
- , Über die Nematodenkrankheit der Zuckerrübe, p. 311.
- Orsi, Alois**, Krankheiten und tierische Schädlinge an Obstbäumen und deren Bekämpfung, p. 343.
- Paál, Arpád**, Teratologische Beobachtungen bei Phaseolus [Ungarisch], p. 328.
- , Teratologische Beobachtungen an Phaseolus [Ungarisch], p. 328.
- Palm, Björn**, Neue Beiträge zur Pilzflora der Stockholmer Gegend [Schwedisch], p. 278.
- Pantanelli, E., e Bruschi, D.**, Ricerche preliminari su la secrezione dell'amilasi, p. 240.
- e **Severini, G.**, Alcune esperienze azotate delle piante verdi con diversi sali di ammonio, p. 258.
- Peglion, V.**, Intorno allo svernamento dell'oidio della quercia, p. 341.
- Pennington, L. H.**, Upon assimilation of atmosphaeric nitrogen by fungi, p. 260.
- Perotti, R.**, Sopra i metodi di misura dell'attività microbica nel terreno agrario, p. 252.
- Peters, L.**, Über die Erreger des Wurzelbrandes, p. 303.
- , Seitenwurzelerkrankungen der Futter- und Zuckerrüben, p. 308.
- Pethybridge, Geo. H.**, Investigations on potato diseases. Second report, p. 315.
- , Considerations and experiments on the supposed infection of the potato crop with the blight fungus (Phytophthora infestans) by means of mycelium derived directly from the planted tubers, p. 316.
- , The „bladder rust“ of scots pine, p. 335.
- Popp, Impfversuche mit Azotogen**, p. 269.
- Pringsheim, Hans**, Die Bedeutung stickstoffbindender Bakterien, p. 262.
- Proß, O.**, Beitrag zur Milchversorgung großer Städte, p. 249.
- Reiß, A.**, Studien über die Bakterienflora des Mains bei Würzburg in qualitativer und quantitativer Hinsicht, p. 244.
- Remy u. Lüstner, Bericht über das Auftreten von Feinden und Krankheiten der Kulturpflanzen in der Rheinprovinz im Jahre 1910**, p. 290.
- Riehm, E.**, Über den Zusammenhang zwischen Rhizoctonia solani Kühn und Hypochnus solani Prill. et Del., p. 316.
- Rörig, G.**, Die Sommergeneration der Getreideblumenfliege (Hylemyia coarctata), p. 294.
- Rohonyi, H.**, Enzymwirkungen und elektrolitische Dissoziation, p. 236.
- Rosenthal, J.**, Die Enzyme und ihre Wirkung, p. 234.
- Sasaki, C.**, On the life history of Trioza Camphorae n. sp. of Camphor tree and its injuries, p. 341.
- Schander, Einfluß des Bodens, der Bodenbearbeitung und der Düngung auf das Auftreten des Wurzelbrandes und der Herz- und Trockenfäule**, p. 306.
- Schander, R.**, Über Wurzelbrand, Herz- und Trockenfäule, p. 308.
- Schechner, Kurt**, Krankheiten an Nutz- und Ziergewächsen des Gartens im Jahre 1910, p. 290.
- Schellenberg, H. C.**, Die Brandpilze der Schweiz, p. 295.
- Scheunert, A. u. Lötsch, E.**, Fütterungsversuche mit Tilletia, p. 296.
- Schindler, F.**, Sechsjährige Versuche mit Nitraginimpfung nebst Beiträgen zur Gründungsfrage, p. 260.
- Schmidt, Ernst Willy**, Die Beziehungen der Oxydationsfermente zur Pflanzenatmung p. 237.
- Schmidt, W.**, Kurze Darstellung der Phänomene der Gärung und ihrer Beziehungen zur Praxis, p. 232.

- Schöne, Albert**, Was wissen wir über die Wärmeerzeugung durch Mikroorganismen bei der Selbsterhitzung (Selbstentzündung) aufgehäufter organischer Massen, speziell von Produkten der Zuckerindustrie? p. 224.
- , Über eine starke Zersetzung eines Rübenrohrzuckers, p. 251.
- Schulze, B.**, Die Leistung des Nitrits bei Vegetations- und Feldversuchen, p. 269.
- Selby, A. D.**, The blister rust of white pine (*Peridermium Strobi* Klebahn) found in Ohio, p. 333.
- Severini, G.**, Su le formazioni tubercolari nello *Juniperus communis*, p. 338.
- Sharp, Lester W.**, Nuclear phenomena in *Puccinia podophylli*. Prelimin. note, p. 284.
- Simon**, Über die Herstellung der Azotogen-Impfstoffe für Hülsenfrüchte, p. 266.
- Spaulding, Perley**, The Blister Rust of white Pine, p. 333.
- , The rusts of *Tsuga canadensis*, p. 338.
- Spisar, Karl**, Die Flachsseide und die Zuckerrübe, p. 314.
- Stettner, O.**, Eine Monstrositätenbildung bei Mais, p. 299.
- Stewart, F. C.**, Notes on New York plant diseases. I., p. 287.
- Stift, A.**, Zur Geschichte des Wurzelbrandes, p. 303.
- , Zur Geschichte der Herz- und Trockenfäule, p. 306.
- , Über das Auftreten der Blattläuse auf Zuckerrüben, p. 308.
- , Über das Auftreten von Blattfleckenkrankheiten auf Futter- und Zuckerrüben, p. 310.
- Störmer**, Versuche über die Beeinflussung der Wirkung des Gründungs-Stickstoffs durch Zugabe von Stroh, p. 274.
- , Wovon hängt das Auftreten der Kartoffelkrankheiten ab und mit welchen Maßnahmen bekämpft man sie? p. 317.
- Stutzer, A.**, Über Nitride in ihren Wirkungen auf Pflanzen, p. 268.
- Swoboda, W.**, Die Insektenschädlinge unserer wichtigsten Gemüsepflanzen, p. 327.
- Sydow, H. u. P.**, *Fungi africani novi*, p. 279.
- Székács, Elemér**, Erfahrungen über die Rostkrankheit des Weizens, p. 299.
- Takeuchi, T.**, Eine technische Anwendung der Urease, p. 240.
- Teichert, K.**, Über die Bereitung von Labkugeln, p. 237.
- Thaer Willi**, Der Einfluß von Kalk und Humus auf die mechanische, physikalische und chemische Beschaffenheit von Ton-, Lehm- und Sandboden, p. 271.
- Torrend, C.**, *Trametes ochroleuca* (Berk.) Bres., v. *lusitanica* Torrend, p. 286.
- Tubeuf, Karl von**, Die Brandkrankheiten des Getreides, p. 295.
- Uzel, H.**, Krankheiten und Feinde der Zuckerrübe in Böhmen und anderer kultivierter Pflanzen im Jahre 1909, p. 302.
- , Über die auf der Zuckerrübe lebenden Blattflöhe, p. 309.
- Varga, Oskar u. Csókás, Gyula**, Mykologische Studie über die Flachs- und Hanfröste [Ungarisch], p. 275.
- Vater, H.**, Die Tharandter Forstdüngungsversuche, p. 260.
- Vickery, A. R.**, Contributions to a knowledge of the Corn Root-Aphis, p. 298.
- Vogel**, Über den Einfluß von kohlensaurem Kalk auf die Umwandlung von Ammoniakstickstoff und Nitratsstickstoff, p. 261.
- Vuillemin, P.**, Le Blanc du Chêne, p. 341.
- Wager, Harold**, The yeast cell, p. 233.
- Wagner**, Eine neue Haferkrankheit, ihre Entstehung und Bekämpfung, p. 301.
- Wahl, Bruno**, Über zwei neue Hopfenschädlinge, p. 330.
- Walpole, G.**, The action of *Bac. lactis aërogenes* on glucose and mannitol. Part. II. The investigation of the 2 : 3 butanediol and the acetylmethylcarbinol formed; the effect of free oxygen upon their production; the action of *Bac. lactis aërogenes* on fructose, p. 232.
- Warburton, C. W.**, Ergot on oats, p. 300.
- Weese, Josef**, Zur Kenntnis des Erregers der Krebskrankheit an Obst- und Laubholzstämmen, p. 343.
- Welter**, Beitrag zur Kenntnis der Reversibilität der Enzymwirkung, p. 236.
- Werth, Emil**, Zur Biologie des Antherenbrandes, p. 297.
- Whetzel, H. H. and Reddick, Donald**, Development of *Claviceps*, p. 300.
- White, Jean**, The proteolytic enzyme of *Drosera*, p. 239.
- von Wlodek**, Beiträge zur Frage der Ammoniakverdunstung und -umwandlung im Boden, p. 270.
- Wollenweber, H. W.**, Untersuchungen über die natürliche Verbreitung der Fusarien an der Kartoffel, p. 326.
- u. **Schlumberger, O.**, Infektionsversuche mit kartoffelbewohnenden Pilzen, p. 315.
- Young, J.**, Über die Zusammensetzung der durch Hefepreßsaft gebildeten Hexosephosphorsäure. II, p. 234.
- Zaleski, W. und Reinhard, A.**, Über die fermentative Oxydation der Oxalsäure, p. 238.

Neue Literatur. p. 344.

Abgeschlossen am 19. Dezember 1911.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 32. No. 13/19.

Ausgegeben am 27. Januar 1912.

Nachdruck verboten.

Bedingungen der Hexenringbildung bei Schimmelpilzen.

Von **Max Munk.**

Mit 11 Textfiguren.

Einleitung.

Die Tatsache, daß viele Pilze ihre Fruchträger in kreisförmiger Anordnung zusammenreihen und auf diese Weise ganze Fruchtringe, oder wie sie der Volksmund nannte „Hexenringe“, bilden, hat schon verschiedene Forscher veranlaßt, über die Ursachen ihrer Entstehung Hypothesen aufzustellen. So vermutet **Thomas Milburn** in seiner Untersuchung „Über die Änderung der Farben bei Pilzen und Bakterien“, daß wohl die feste resp. flüssige Beschaffenheit des Mediums, auf welchem der Pilz kultiviert wird von Einfluß auf die Ringbildung ist. **Hutchinson**, der hauptsächlich über die Formen von Bakterienkulturen gearbeitet hat, schreibt lediglich dem Licht als solchem den Einfluß auf die Bildung konzentrischer Zonen zu. Er zieht auch Pilze (*Penicillium* und *Eurotium*) in den Kreis seiner Betrachtungen herein und bestreitet die Ansicht von **Klebs**, daß das Licht nur einen indirekten Einfluß auf das Wachstum der Pilze habe. Auch **Molz** sieht die Wirkung des Lichtes auf die Ringbildung für eine direkte an, doch hebt er deutlich hervor, daß das Licht wohl nicht der einzige Faktor ist, welcher Hexenringbildung herbeiführt. Als einen zweiten Faktor führt er die Temperatur an. Das Pilzmycel sinkt bei hoher Temperatur in die flüssig gewordene Gelatine hinein, kann also keine Früchte bilden. Nimmt die Temperatur ab, so erstarrt die Gelatine wieder, das Mycel wächst deshalb auch wieder an der Oberfläche und produziert Konidien. Auf diese Weise stellt sich **Molz** das abwechselnde Entstehen von Mycelringen und Fruchtringen auf Gelatinekulturen vor. **Knischewsky** konstatiert ebenfalls nur eine Einwirkung des Wechsels von Licht und Dunkelheit auf die Zonenbildung. **George Grant Hedgcock** und **Gallemaerts** dagegen haben Kulturen in verschiedenfarbigem Licht gemacht, sind aber zu entgegengesetzten Resultaten gekommen. Auf die Untersuchungen dieser beiden Forscher wird im speziellen Teil noch näher eingegangen werden. Als einzige Arbeit, die sich eingehender mit der Frage über die Ringbildung befaßt, ist mir die von **Reidemeister** bekannt: „Die Bedingungen der Sklerotien- und der Sklerotienringbildung von *Botrytis cinerea* auf künstlichen Nährböden“. Dieser Forscher weist auf den wichtigen Einfluß der Transpiration hin und führt ferner Versuche an, bei welchen die Wirkung der Alkalidität resp. Azidität des Nährmediums auf die Ringbildung deutlich zu erkennen ist. **I. Massart**, **Stevens** und **Hall** vermuten, daß die Erschöpfung und Veränderung des Nährmediums durch Ausscheidungsprodukte wichtige Bedingungen für die Hexenringbildung sind.

Auch die folgende Untersuchung soll ein Beitrag zur Lösung der Frage nach den Ursachen der Hexenringbildung sein. Es war mir dabei vor allem darum zu tun, allgemeine Prinzipien aufzustellen, die nicht nur für einen Pilz, sondern für die verschiedenartigsten Formen und Gruppen von Pilzen gelten.

Ich will zunächst den Gedankengang, der mich bei der Lösung der Aufgabe leitete, angeben. De Bary nahm an, daß es wohl innere Ursachen seien, die einen Pilz dazu zwingen, seine Fruchtkörper in Kreisen anzuordnen. Dieser Ansicht tritt zum erstenmal Klebs in seinen allgemeinen physiologischen Betrachtungen entgegen. Dort hebt Klebs vor allem das eine hervor, daß es äußere Einflüsse sind, die die Hexenringbildung verursachen, und daß die notwendigste Bedingung für die Ringbildung die gleichmäßige Verteilung der Nährstoffe in einem homogenen Nährsubstrat ist. Wir haben uns das ungefähr folgendermaßen vorzustellen: Keimen auf einem gleichförmigen Substrat von einem Punkte aus einige Pilzsporen, so wird das Mycel nach einiger Zeit dieses Substrat in einer Kreisfläche bedecken und durchziehen. Die Hyphen haben sich allseitig, strahlenförmig, mit gleicher Geschwindigkeit ausgebreitet. Waren die Außenbedingungen während dieser ersten Zeit des Wachstums derart, daß sie nur vegetatives Wachstum gestatten, und tritt nun plötzlich eine solche Veränderung ein, die den Pilz zur Fruktifikation anregt, so wird diese Fruchtbildung bei den meisten Pilzen nicht auf der ganzen Kreisfläche gleichmäßig eintreten, sondern nur nahe an ihrem Rande. An den Hyphenenden selbst sind nämlich die Zellen sehr protoplasmareich und wachsen rein vegetativ. Im Innern der Myceldecke dagegen, d. h. in ihren älteren Teilen, befinden sich die Zellen in einem gewissen Starrezustand. Sie können nur sehr schwer zur Teilung und Sporenbildung gebracht werden. Es gelingt dies manchmal dadurch, daß man Stücke dieses alten Mycels auf einen frischen und zuträglichen Nährboden bringt. Sehr oft aber habe ich die Hyphen aus dem Zentrum der Myceldecke abgestorben gefunden. So keimten z. B. 14 Tage alte Hyphen von *Hypocrea rufa* im hängenden Tropfen von Pflaumensaft nicht mehr aus. Ihre Lebensdauer ist also eine sehr beschränkte. Für eine solche kurze Lebensdauer und einen dem Tod vorangehenden Starrezustand sprechen auch die Kulturversuche von Pantanelli und Köhler, die für *Aspergillus niger* nachwiesen, daß auf einer Nährlösung von bestimmter Zusammensetzung die Lebensdauer der Hyphenzellen durchschnittlich 4—5 Tage betrug. Ich habe mich nicht weiter mit der Frage nach der Lebensdauer der Hyphenzellen befaßt, da nach der obigen Auffassung von der Entstehung des ersten Fruchtrings die Feststellung der Tatsache genügt, daß die älteren Hyphenzellen sich in einem gewissen Starrezustand befinden. Gelingt es also, die Bedingungen einesteils für vegetatives Wachstum, andernteils für die Fruktifikation aufzufinden, so müßte man durch abwechselndes Einschalten der einen oder anderen Bedingungen, bald Zonen von vegetativem Mycel, bald Fruchtringe hervorrufen können. Bei einigen von mir untersuchten Pilzen gelingt es nicht, die Fruktifikationsbedingungen vollständig auszuschalten, wenn sie auf den gewöhnlichen Kulturmedien, wie Agar-Agar oder Gelatine, zum Keimen und Wachsen gebracht werden. Wir können die Sporenbildung dieser Pilze nur schwächen oder verstärken und erhalten abwechselnd Zonen mit sehr wenigen und solche mit sehr vielen Konidien. Da sich aber diese Hexenringe nicht prinzipiell von den vorher besprochenen unterscheiden, soll die Bezeichnung „Hexenring“ für beide Fälle gelten.

Angabe der Pilze.

Ich benützte zu meinen Kulturen vor allem die überall vorkommenden Schimmelpilze. Dann aber überließen mir auch einige Herren Oberpraktikanten des botanischen Instituts in Heidelberg, Herr Dr. Medisch und

Herr Dr. Leininger, in freundlichster Weise Reinkulturen der von ihnen untersuchten Pilze, wofür denselben auch an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen sei.

Die untersuchten Pilzspezies sind:

Acrostalagmus cinnabarinus Corda,
Aspergillus niger van Tiegh.,
Aspergillus ochraceus (Wehmer),
Cephalothecium roseum Corda,
Hypocrea rufa (Pers.),
Pestalozzia palmarum Cooke,
Penicillium claviforme (Coremum) Bainier,
Penicillium spec. A,
Penicillium spec. B,
Citromyces spec. a.

Es gelang mir nicht, 2 *Penicillium* arten mit den in Rabenhorsts Kryptogamenflora angeführten Spezies zu identifizieren. Ich muß sie deshalb hier kurz charakterisieren. Um dem Einwand auszuweichen, daß die Artunterschiede durch äußere Einflüsse bedingt seien, kultivierte ich die 2 Arten, um die es sich handelte, auf Agar + 3 Proz. Glukose.

1. *Penicillium* spec. A.

Dieser Pilz wächst ziemlich langsam auf dem Traubenzuckeragar, zeigt aber eine sehr reichliche Konidienbildung. Die Farbe der Sporenmasse ist in den ersten Tagen weißgrün und wird nach 10—14 Tagen olivgrün. Hyphen und Konidienträger sind septiert. Die Hyphen sind 1—6 μ breit, also schmaler als die Konidienträger, die einen Durchmesser von 2,5—3 μ haben. Die Konidienträger sind 100—200 μ lang, teilen sich oft in 2 Arme (s. Figur 1), an denen die Sterigmen 1. Ordnung, 9,2—16 μ lang, sitzen, die meist in 3 Zahl vorkommen; auch die Sterigmen 2. Ordnung stehen meist zu dreien auf einem solchen 1. Ordnung und haben eine Länge von 9—11 μ . Konidien kugelig, fast hyalin erscheinend, ganz glatt, 2,6—3,4 μ im Durchmesser. Diese spec. A. ist vielleicht identisch mit *Penic. comune* (Thom).

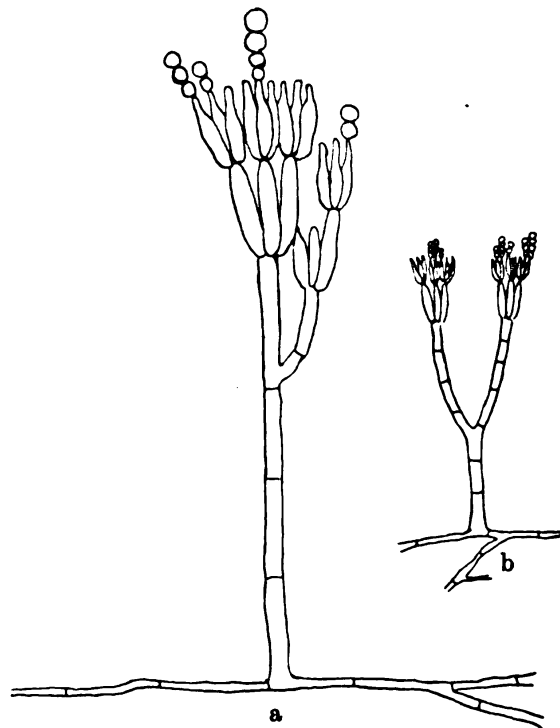


Fig. 1. *Penicillium* spec. A. a u. b. Die zwei vorkommenden Formen von Konidienträgern.

Die spec. A. ist vielleicht identisch mit *Penic. comune* (Thom).

2. *Penicillium* spec. B.

Wächst rascher als spec. A, bildet aber weniger Konidien als diese Spec. Die Farbe der Sporendecke ist graugrün. Hyphen und Konidienträger septiert. Konidienträger 35—90 μ lang und 4 μ breit. Sterigmen sehen

denen von Spec. A ähnlich. Sterigmen 1. Ordnung 10—14 μ , Sterigmen 2. Ordnung 5—7 μ lang. Oft sitzen schon an den Sterigmen 1. Ordnung die Konidien. Die Konidienträger sind verzweigt, so daß ein Träger manchmal 4—5 Äste besitzt. Konidien kugelig, glatt, 3—4 μ im Durchmesser. Vegetative Hyphen 4—8 μ breit. (Fig. 2.)

Citromyces spec. a.

Auch diese *Citromyces*-Species konnte nicht näher bestimmt werden. Die graugrünen Sporen bilden lange Ketten, die septierten Konidienträger sind nur 51—63 μ lang und 2—3 μ breit und haben nur Sterigmen 1. Ordnung. Die Sterigmen besitzen eine elliptische Form Sterigmen 9,4—11 μ lang, 5—6 μ breit; Konidien kugelig 2,4—3 μ im Durchmesser, vegetative Hyphen 2—5 μ breit, die meisten 4 μ breit, sind septiert. (Fig. 3.)

Spezieller Teil.

Die meisten der oben angeführten Pilze erhielt ich dadurch, daß ich Brot mit etwas Pflaumensaft anfeuchtete und unter eine Glasglocke brachte. Deshalb be-

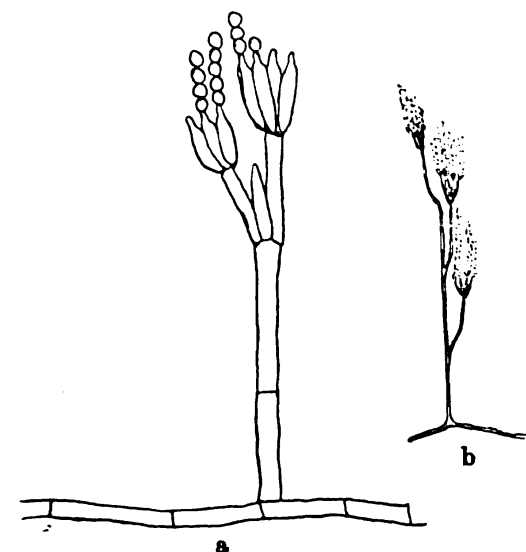


Fig. 2. *Penicillium spec. B.* a. Konidienträger. b. Form der Konidienanordnung.

nützte ich zu meinen ersten Kulturen ausschließlich Kohlehydrate als Beigabe zum Agar, resp. zu der Gelatine. Ich stellte die Kulturen, die

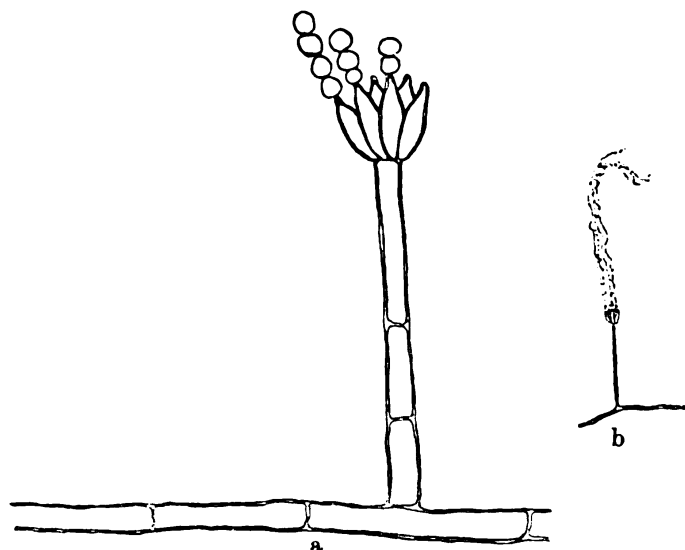


Fig. 3. *Citromyces spec. a.* a. Konidienträger. b. Form der Konidienanordnung.

in Petrischalen gehalten wurden, in die Nähe des Fensters, sodaß sie täglich 3—4 Stunden vom direkten Sonnenlicht bestrahlt wurden. Alle Pilze zeigten in diesen Kulturen eine deutlich ringförmige Anordnung der Konidien (vergl. Tabelle II). Als ich aber dieselben Versuchsreihen im Dunkelmzimmer bei konstanter Temperatur machte, bildeten die Pilze keine Ringe mehr. Dies Resultat bestätigt also die Ergebnisse der Untersuchungen der früheren

Forscher. Doch herrschte noch darüber Unklarheit, ob die Fruchtringe am Licht oder im Dunkeln entstehen. Die meisten Forscher nehmen zwar an,

daß im Licht die Hexenringe angelegt werden, während G a l l e m a e r t s behauptet, daß sie im Dunkeln entstehen. Ich stellte nun zunächst fest, daß immer am Abend die Anlage eines neuen Fruchtringes zu beobachten war, der dann im Laufe der Nacht nur wenig an Konidien zunahm, aber während des folgenden Tages, an dem also schon der nächste Ring angelegt wird, seine Sporenmasse noch erheblich verstärkte.

Nachdem ich diese Tatsache festgestellt hatte, wendete ich mich zur Hauptaufgabe der folgenden Untersuchung.

1. Bei Wechsel von Licht und Dunkelheit die Ringbildung zu verhindern,
2. Im Dunkeln Ringbildung hervorzurufen.

Diese Aufgabe suchte ich nun auf zwei Arten zu lösen, sodaß ich folgende Gliederung der Arbeit erhalte.

I. Einfluß der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Nährmediums

1. Auf die Verhinderung der Ringbildung beim Wechsel von Licht und Dunkel,
2. Auf die Erzeugung von Ringen im Dunkeln.

II. Einfluß der Transpiration und Temperatur

1. Auf die Verhinderung der Ringbildung beim Wechsel von hell und dunkel,
2. Auf die Erzeugung von Ringen im Dunkeln.

I. Einfluß der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Nährmediums.

1. Verhinderung der Ringbildung beim Wechsel von Licht und Dunkelheit.

Es galt zunächst die Frage zu lösen, ob die Ringbildung der verschiedenen Schimmelpilze von der chemischen Beschaffenheit des dargebotenen Nährmediums abhängig ist. Der erste Teil dieser Frage, nämlich bei Kulturen, die dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt waren, die Entstehung der Hexenringe zu unterdrücken, konnte leider zu keinem entscheidenden Resultat geführt werden. Die Tabelle II im zweiten Abschnitt dieser Untersuchung zeigt, daß am Licht auf den dort angeführten Nährmedien stets Ringe auftraten. Nur bei wenigen Versuchen gelang es mir noch Früchte hervorzurufen, die nicht mehr in Ringen angeordnet waren. Schon Milburn hat nachgewiesen, daß mit zunehmender Konzentration des Traubenzuckers im Agar die Ringe von *Hypocrea rufa* immer enger und enger werden, und die Zahl der Konidien allmählich abnimmt. Auf einem 30-proz. Glukoseagar z. B. traten wohl noch Konidien, aber unregelmäßig angeordnet, auf (vergl. Milburn Fig. 4 a u. b). Als Beispiel für das Engerwerden der Hexenringe bei *Hypocrea rufa* sei hier angegeben, daß bei einer Konzentration des Traubenzuckers von 2 Proz. bis 5 Proz. der erste Ring einen Durchmesser von 3 cm hat; bei einer Konzentration von 10 Proz. dagegen war der erste Ring nur 1 cm weit.

Dieselbe Erscheinung, Abnahme der Konidien und Engerwerden der Ringe trat auch dann ein, wenn ich zu 2-proz. oder 3-proz. Glukoseagar Pepton in steigender Konzentration (bis zu 5 Proz.) hinzusetzte. Auf reinem Peptonagar bildete *Hypocrea rufa* überhaupt nur noch vegetatives Mycel und erst am Rande des Kulturgefäßes Konidien. Auch die *Peni-*

cillium spec. bildeten auf Agar + 2 Proz. Glukose + 2 Proz. Pepton wohl noch Konidien, aber keine Ringe mehr. Auf Agar + 2 Proz. Glukose und 3 Proz. Pepton wuchsen diese *Penicillium spec.* nur noch vegetativ.

Wie schon einleitend erwähnt wurde, sind alle diese Versuche nicht vollständig und entscheidend genug, um ein allgemein gültiges Resultat aufstellen zu können. Es ist also nur höchst wahrscheinlich, daß mit zunehmender Konzentration des Nährmediums die Ringbildung verhindert wird.

2. Erzeugung von Hexenringen im Dunkeln.

Durch die Lebenstätigkeit des Pilzes wurde der Nährboden, in dem sich Pepton befand, alkalisch. Dieser Befund führte mich zu der Vermutung, daß eventuell die Alkaleszenz von Einfluß auf die Ringbildung ist. Ich stellte daher einen Nährboden her, der von vornherein alkalisch war. Dann bot ich dem Pilz solche Nahrung, daß die Alkaleszenz während des Wachstums des Pilzes nicht zunahm, sondern verhältnismäßig konstant blieb. Einen solchen Nähragar verfertigte ich auf folgende Weise: Als Ausgangs-

lösung diente mir eine $\frac{n}{10}$ NaOH-Lösung. Um einen 10-proz. $\frac{n}{10}$ NaOH-Agar zu erhalten, nahm ich 10 ccm Natronlauge und fügte noch 90 ccm reines Wasser hinzu. Darin ließ ich 2 g Agar quellen und verflüssigte das Ganze bei 2 Atmosphären Druck im Autoklaven. Um das Wachstum der Pilze einigermaßen zu fördern, mußte ich noch Kohlehydrate entweder in Form von Pflaumensaft oder einfach bestimmte Prozentsätze von Traubenzucker zugeben. Auf diesen Agar wurden die Pilze geimpft.

Am Licht erhielt ich nach wie vor Ringe, nur daß diese mit steigender Alkalidität enger und enger wurden. Aber auch im Dunkeln traten Ringe auf. Um aber die Versuche zu verstehen, die darauf hinausgehen, im Dunkeln bei konstanter Temperatur durch Zusatz bestimmter chemischer Stoffe Ringe zu erzeugen, muß ich einige Erscheinungen, die dem Gebiete der physikalischen Chemie angehören, hier kurz beschreiben.

Bei der Betrachtung von Pilzkulturen mit typisch ausgebildeten Hexenringen ist mir unwillkürlich die große Ähnlichkeit mit den, zuerst von Liesegang aufgefundenen, später von Ostwald weiter untersuchten Diffusionsringen aufgefallen. Es drängte sich mir deshalb der Gedanke auf, daß beide Erscheinungen möglicherweise dieselbe, resp. analoge Ursachen haben könnten.

Ostwald erklärt diese Diffusionsringe folgendermaßen: Lassen wir in einer Kristallisationsschale Gelatine erstarren, und bringen in eine herausgestochene Öffnung etwas Ammoniumphosphatlösung $(\text{NH}_4)\text{HPO}_4$, so wird diese durch die Gelatine hindurchdiffundieren. Befinden sich nun in der Gelatine Calciumsalze, was immer der Fall ist, wenn ich gewöhnliches Leitungswasser zu ihrer Herstellung benutze, dann bildet sich das Ammoniumphosphat um zu Calciumphosphat. Dieses wird einige Zeit gelöst in der Gelatine verbleiben, ja sogar noch als übersättigte Lösung in ihr enthalten sein, bis zu einer bestimmten Konzentration hin, bei welcher dann ein Niederschlag entsteht. Dieser Niederschlag erfolgt in Form eines Kreises um die herausgestochene Öffnung herum, in der sich das $(\text{NH}_4)\text{HPO}_4$ befindet. Der Niederschlag gibt die Grenze an, bis zu welcher der Diffusionsstrom gereicht hatte. Zu diesem Niederschlagsring hin wandert das noch innerhalb

der Diffusionsgrenze vorhandene Calciumphosphat und verstärkt ihn. So entsteht der erste Diffusionsring in der Gelatine. Dadurch, daß durch ihn hindurch weiteres Ammoniumphosphat in die außerhalb von ihm gelegene noch calciumhaltige Gelatine diffundiert, entsteht ein zweiter, zu dem ersten konzentrischer, Niederschlagsring usw.

Ich will nun versuchen, auf ähnliche Weise die Entstehung der Hexenringe zu erklären. Ich gehe dabei von den Kulturen auf alkalischem Agar aus. Das Alkali ist der Stoff, der höchstwahrscheinlich die Nahrungsaufnahme erschwert, während das beigefügte Kohlehydrat diese fördert. Das Alkali und das Kohlehydrat sind aber die hauptsächlichen Stoffe, die leicht durch den Agar hindurchdiffundieren, wenn an irgendeiner Stelle ein Konzentrationsgefälle auftritt. Dieses Konzentrationsgefälle wird durch das Wachstum des Pilzes hervorgerufen, und zwar ist es das Kohlehydrat, welches an der Impfstelle aufgebraucht wird. Ist der Pilz einige Zeit gewachsen und bedeckt sein Mycel eine Kreisfläche des Nähragars, so wird dieser vom Pilz durchzogene Agar das Kohlehydrat in geringerer prozentischer Zusammensetzung enthalten, als der umgebende Agar. Es wird infolgedessen ein Diffusionsstrom von außen nach innen, nach dem Zentrum des Mycelgeflechtes hin, stattfinden. Das diffundierende Kohlehydrat wird aber schon auf halbem Wege für das Wachstum des Pilzes aufgebraucht werden. Deshalb wird erstens der Diffusionsstrom ein kontinuierlicher sein, zweitens werden die Lebensbedingungen für den Pilz im Innern der Myceldecke immer schlechter. Daraus erklärt sich die in der Einleitung angeführte Tatsache, daß die dem Zentrum der Myceldecke zu gelegenen Hyphen in einem Starrezustand, ja häufig sogar abgestorben sind. Ähnlich also wie die Wurzelspitze einem Wasserstrom, so wächst hier das Pilzmycel dem Diffusionsstrom entgegen. Ist nach einiger Zeit des Wachstums die Abnahme des Nährsubstrats soweit fortgeschritten, daß sie von den noch lebensfähigen Zellen, dicht hinter dem Rande der Myceldecke, als Nahrungsmangel empfunden wird, dann wird hier, weil Nahrungsmangel ein Reiz zur Fruktifikation ist, Konidienbildung eintreten (Klebs 1900). Zu gleicher Zeit wird aber auch, infolge des Diffusionsstroms, ein Reiz zum vegetativen Weiterwachsen auf die Randzellen, d. h. auf die äußersten Enden des Hyphengeflechtes ausgeübt. Daher ist der Fruchtring, wenn er sichtbar wird, nie am Rande der Myceldecke, sondern eine gewisse Strecke nach innen zu gelegen, weil während der Sporenbildung neue Hyphen vegetativ dem Diffusionsstrom entgegengesproßt sind.

Damit ist die Entstehung des ersten Fruchtrings erklärt. Es fragt sich aber nun: Warum schreitet die Sporenbildung nicht weiter, warum wächst bis zur nächsten Konidienbildung das Mycel zuvor einige Zeit vegetativ? Der Pilz verbraucht beim Erzeugen des ersten Hexenringes sehr viele Nährstoffe, die er teils seinen älteren Hyphen, doch auch vor allem dem Nährsubstrat entzieht. Dadurch nimmt die Nahrung an der Stelle, wo der Pilz zu fruktifizieren begonnen hat, mehr und mehr ab. Diese lokale Nahrungsabnahme regt immer neue Hyphenenden zur Konidienbildung an. Der Konidienring wird dichter. Sehr deutlich ist dieses Neuentstehen von Konidien dicht bei den älteren Fruchträgern in Kulturen von *Hypocrea rufa* zu beobachten. Es sind also immer nur wenig Pilzhyphen, die weiter in das Substrat hinauswachsen. Das Substrat ist aber in der Nähe des Fruchtrings so nahrungsarm, daß für weitere Konidienbildung es nicht ausreicht. Erst in einiger Entfernung vom ersten Hexenring werden also diese

weiterwachsenden Hyphen sich verzweigen und ein stärkeres Hyphengeflecht bilden können. Durch die Lebenstätigkeit dieses Mycelgeflechts wird bald wieder Nahrungsmangel im Substrat entstehen, und ein zweiter Hexenring wird sich anlegen.

Schon Klebs hat in seinen allgemeinen physiologischen Betrachtungen (1900) eine ähnliche Erklärung für die Entstehung des zweiten Fruchtrings gegeben. Er sagt dort: „Wenn aber das Fortpflanzungsorgan infolge seines stärkeren Nahrungsbedürfnisses das umgebende Medium in Anspruch nimmt, so kann sich erst in einiger Entfernung eine neue Fruchtanlage ausbilden. Bei der gleichmäßigen kreisförmigen Anlage der ersten Fruchtanfänge müssen die nächsten daher in einem weiteren Ring entstehen.“ Ferner haben Stevens und Hall darauf hingewiesen, daß die Hexenringbildung bedingt wird durch die abwechselnden Zonen von sehr dichtem und weniger dichtem Mycel. Sie sprechen auch die Vermutung aus, daß entweder infolge schädlicher Wirkungen von Ausscheidungsprodukten, oder infolge des Nahrungsentzugs, immer auf eine Zone mit starker Mycelbildung eine solche mit relativ wenig Hyphen folgt.

Alle diese geschilderten Diffusionserscheinungen finden mehr oder weniger in jedem Agar statt. Warum treten aber nur auf dem alkalischen Agar im Dunkeln bei konstanter Temperatur Ringe auf? Das Alkali ist ein die Entwicklung des Pilzes hemmender Stoff, was leicht durch Vergleichen von Kulturen auf alkalischem mit solchen auf nichtalkalischem Agar zu konstatieren ist. Die relative Anreicherung des Alkali zusammen mit der durch die Lebenstätigkeit des Pilzes hervorgerufenen Nahrungsabnahme wirkt stärker auf den Pilz als die durch die Diffusion im gewöhnlichen Agar erzeugte Nahrungsabnahme allein.

Ich will jetzt zu dem experimentellen Teil übergehen, der also nachweisen soll, daß es der Einfluß der Diffusion ist, der diese Zonenbildung verursacht. Die Wirkung des Lichtes mußte ausgeschaltet werden, deshalb wurden alle Versuche im Dunkelzimmer und zwar bei einer konstanten Temperatur von 28° C im Thermostaten gemacht.

a) Kulturen auf Nährsubstrat mit wachstumshemmenden Stoffen.

Ich wiederholte znnächst die Versuche mit alkalischem Agar. Das Ergebnis war, wie vorauszusehen, bei den verschiedenen Pilzspezies verschieden, denn nicht auf alle wirkte das Alkali in gleichem Maße entwicklungshemmend ein. So z. B. bildeten fast alle *Penicillium spec.* mit Ausnahme von *Penicillium spec. A* überhaupt keine Fruchtringe auf alkalischem Agar.

Penicillium spec. A zeigte in 48 Tagen alten Kulturen auf 2-proz. Glukoseagar folgendes Verhalten: Bei Zusatz von:

10 Proz.	$\frac{n}{10}$	NaOH bildete es	4 Ringe
15 „	$\frac{n}{10}$	NaOH „ „	2 „
20 „	$\frac{n}{10}$	NaOH „ „	3 „
30 „	$\frac{n}{10}$	NaOH „ „	1 „
40 „	$\frac{n}{10}$	NaOH „ „	0 „

Auch *Aspergillus niger* bildete keine Ringe auf dem alka-

lischen Agar. Das Verhalten der anderen Pilzspezies ergibt sich aus folgender Tabelle.

Tabelle I.

Kulturen auf 2-proz. Glukose-Agar bei einer konstanten Temperatur von 28° C im Dunkeln.

a) Mit Zusatz von 5 Proz. Natronlauge.				
<i>Hypocrea rufa</i>	bildet nach	30	Tagen	0 Ringe
<i>Acrostalagmus cinnabarinus</i>	„ „	30	„	0 „
<i>Aspergillus ochraceus</i>	„ „	30	„	1 Ring
b) Mit Zusatz von 10 Proz. $\frac{n}{10}$ Natronlauge.				
<i>Hypocrea rufa</i>	bildet nach	30	Tagen	1 Ring
<i>Acrostalagmus cinnabarinus</i>	„ „	30	„	2 Ringe
<i>Aspergillus ochraceus</i>	„ „	30	„	3 „
c) Mit Zusatz von 20 Proz. $\frac{n}{10}$ Natronlauge.				
<i>Hypocrea rufa</i>	bildet nach	30	Tagen	0 Ringe
<i>Acrostalagmus cinnabarinus</i>	„ „	30	„	2 „
<i>Aspergillus ochraceus</i>	„ „	30	„	2 „
d) Mit Zusatz von 30 Proz. $\frac{n}{10}$ Natronlauge.				
<i>Hypocrea rufa</i>	bildet nach	30	Tagen	0 Ringe
<i>Acrostalagmus cinnabarinus</i>	„ „	30	„	3 „
<i>Aspergillus ochraceus</i>	„ „	30	„	2 „

Es fragt sich nun, ob auch andere Stoffe ähnlich wirken wie das Alkali. Reidemeister fand nämlich, daß nicht nur auf alkalischem, sondern auch auf saurem Agar *Botrytis cinerea* Sklerotienringe bildet. Dieser Forscher schreibt aber nicht der Säure resp. dem Alkali den Einfluß auf die Ringbildung zu, sondern vermutet, daß die flüssige Beschaffenheit des Agars die Hexenringbildung bewirkt. Er schließt dies aus einem Versuch, in welchem er auf bereits sterilisierten und erstarrten Agar Phosphorsäure auftrug. Nachdem die Säure gelöst ward, impfte er und erhielt nun unregelmäßige Verteilung der Sklerotien. Meiner Ansicht nach rührt diese unregelmäßige Sklerotienverteilung von den heterogenen Diffusionsbedingungen her, die durch unregelmäßige Verteilung der Phosphorsäure hervorgerufen wurden. Die flüssige Beschaffenheit des Agars wirkt im Gegenteil hemmend auf die Ringbildung ein, was auch schon Milburn bei seinen Kulturen von *Hypocrea rufa* hat beobachten können. Die Säure ist nämlich auch ein die Nahrungsaufnahme hemmender Faktor, aber in den Agarkulturen hatte der Pilz offenbar damit zu kämpfen, seine Hyphen aus dem halbflüssigen, marmeladeähnlichen Agar herauszubekommen. Sehr gut konnte dies an Kulturen von *Penicillium claviforme* (Coremium) beobachtet werden. Wurde dieser Pilz auf saurem Pflaumensaft-agar, oder auf Agar + 2 Proz. Glukose + 1 Proz. Kalium bitartaricum geimpft, so bildete er darin nur vegetatives Mycel. Sein Wachstum war sehr langsam. Erst nach 4—6 Wochen traten Koremien auf am Rande des Mycelgeflechtes. Ihre Anordnung war kreisförmig; doch waren in dem Fruchtring vielfach Lücken vorhanden, in welchen sich keine Koremien, aber auch keine Konidien gebildet hatten. Es bleibt hier noch zu erwähnen, daß der alkalische Agar, den ich zu meinen Kulturen benutzte, nicht flüssig war, wie der Reidemeisters, sondern im Gegenteil eine viel kompaktere Gallerte darstellte als reiner Agar. Höchstwahrscheinlich ist in ihm auch die Diffusionsgeschwindigkeit eine viel geringere, was auf die Ringbildung noch begünstigend einwirken mag.

Um nun dem Übelstand eines von vornherein flüssigen Nährmediums abzuhelpen, kultivierte ich die Pilze auf einer 20-proz. Gelatine, der ich 1—2 Proz. Weinstein und 3 Proz. Glukose beigab. Wohl wird auch dieses Substrat durch die Ernährungstätigkeit des Pilzes verflüssigt, jedoch die vom Pilz nicht durchwucherte Gelatine bleibt fest. Auch stellt die Gelatine selbst ein ziemlich gutes Nährmedium für den Pilz dar, so daß also der Diffusionsstrom und die Ernährungsbedingung ähnlich ist wie im festen Agar.

Für die *Penicillium spec.* verhindert die Säure ein rasches Gedeihen, wie die Kulturen auf saurem Agar es zeigten. Deshalb bildeten alle von mir auf der sauren Gelatine kultivierten *Penicillium* arten im Wärmeschrank bei einer konstanten Temperatur von 20° C sehr deutliche Ringe. Die Fruktifikationszonen waren beinahe so breit, wie die vegetativen, und zwar meist 0,5 cm. Bei diesen *Penicillium* kulturen im Dunkelzimmer gelang es mir zum erstenmal abwechselnd Zonen von rein vegetativem *Penicillium mycel* und solche mit Konidien zu erhalten. Auf dem festen Agar entstehen die Hexenringe dadurch, daß Zonen von sehr geringer Konidienzahl mit solchen von sehr dicht stehenden Konidien abwechseln. Dieser Unterschied hat seine Ursache darin, daß bei den Gelatinekulturen nach dem ersten Ring die Hyphen im flüssigen Substrat weiterwachsen und erst dann wieder aus ihm hervorragen und Konidien abschnüren, wenn das Hyphengeflecht wieder dichter und stärker geworden ist.

Jedoch wie das Alkali nicht auf alle Pilze in gleicher Weise wirkte, so auch nicht die Säure. So bildet z. B. *Hypocrea rufa* auf saurer Gelatine keine Ringe. Nun hat Medisch gezeigt, daß durch Neutralisation der Nährlösung stets Konidienbildung ausgelöst wird. Ich ließ *Hypocrea rufa* auf einem alkalischen Agar (+ 2 Proz. Glukose + 20 $\frac{n}{10}$ NaOH)

2 Tage vegetativ wachsen. Dann streute ich rings am Rande der Petrischale Weinstein (pulverisiert) in großen Mengen auf. Infolge der Neutralisation des Alkali durch die Säure wurde bei *Hypocrea rufa* die Sporenbildung ausgelöst, und ich erhielt in einiger Entfernung vom Kulturgefäßrand einen etwas unregelmäßigen Fruchtring. Auch das ist ein weiteres Beispiel für den Einfluß der Diffusion auf die Ringbildung.

Außer Säure- und Alkali gibt es noch andere Stoffe, die auf das Gedeihen der Pilze hemmend einwirken. Es ist sehr wahrscheinlich, daß jeweils eine Pilzspezies auf bestimmte Stoffe besonders gut reagiert, während eine zweite Pilzspezies auf denselben Stoffen kultiviert keine Ringbildung zeigt. Ich habe das Glyzerin als einen solchen entwicklungshemmenden Stoff untersucht und gefunden, daß von allen untersuchten Pilzen nur *Hypocrea rufa* auf Glyzerinagar Ringe bildet.

Hypocrea rufa erzeugte im Dunkeln bei einer konstanten Temperatur von 28° auf Agar mit:

5 Proz. Glyzerin + 1 Proz. Glukose	nach 8 Tagen	1 Ring
5 " " + 2 " "	8 " "	1 " "
5 " " + 2 " "	14 weiteren Tagen	einen 2. nicht ganz vollständigen Ring.
5 " " + 3 " "	8 Tagen	1 " "
5 " " + 3 " "	25 " "	2 Ringe,
der 2. Ring nur noch durch einzelne Fruchthäufchen angedeutet.		
10 Proz. Glyzerin + 2 Proz. Glukose	nach 14 Tagen	1 unvollständigen Ring
10 " " + 3 " "	12 " "	1 " "

Ich habe mich nicht weiter damit befaßt, auch für die anderen Pilz-

spezies solche die Hexenringbildung fördernde Stoffe aufzusuchen, sondern mich zu einer neuen Frage gewendet. In all den bisher besprochenen Kulturen waren die entwicklungshemmenden Stoffe schon von vornherein in dem Nährmedium enthalten. Es haben nun aber verschiedene Forscher, Massart, Stevens und Hall, die Ansicht ausgesprochen, daß der Pilz selbst Stoffe ausscheidet, die die Ringbildung begünstigen. Um die Wirkung dieser Ausscheidungsprodukte zu studieren, habe ich *Penicillium spec. B* 12 Wochen lang in 3-proz. Glukoselösung bei konstanter Temperatur im Dunkelzimmer kultiviert. Aus der Kulturflüssigkeit verfertigte ich einen Agar. Um die thermolabilen Stoffe, auf deren Wirkung Küster (1908 u. 1909) an verschiedenen Stellen hingewiesen hat, nicht zu zerstören, stellte ich zunächst mit reinem Wasser einen 4-proz. Agar her; diesen ließ ich auf 40° sich abkühlen und gab dazu nun die ebenfalls bis zu 40° erwärmte Kulturflüssigkeit. So erhielt ich einen 2-proz. Agar, in welchem die Ausscheidungsprodukte und die von dem Pilz noch nicht verbrauchte Glukose der ursprünglichen Nährlösung enthalten waren. Der Glukosegehalt dieser Kulturflüssigkeit wurde durch Titrieren bestimmt. Wenn die Ausscheidungsprodukte einen Einfluß auf die Ringbildung hätten, so müßte sich derselbe darin zeigen, daß bei Dunkelkulturen auf dem Agar mit Ausscheidungsprodukten Hexenringbildung eintritt, auf dem entsprechenden Agar ohne Ausscheidungsprodukte sie aber unterbleibt. Dies fand nicht statt. Auf beiden Agararten waren Kulturen von derselben Pilzspezies einander gleich. Ich impfte nämlich nicht nur *Penicillium spec. B*, sondern auch die anderen *Penicillium* arten auf die zwei Agararten. Stets war bei konstanter Temperatur die Verteilung der Konidien eine gleichmäßige. Dieser Versuch läßt also vermuten, daß die Ausscheidungsprodukte von geringer Bedeutung für die Hexenringbildung sind.

Außer den Ausscheidungsprodukten, worunter nach Küster und Lutz fermentartige Stoffe zu verstehen sind, die ähnlich wie Gifte auf den Pilz wirken, bildet das Mycel z. B. auf Agar + Kohlehydrat Säure und auf Agar + Pepton Alkali. Für diese beiden Stoffe habe ich aber nachgewiesen, daß sie die Erzeugung von Hexenringen fördern. In der Tat konnte ich auch für *Aspergillus ochraceus* zeigen, daß die Säureproduktion des Pilzes selbst genügt im Dunkeln, bei konstanten Temperaturbedingungen, Ringbildung herbeizuführen. Auf Agar + 2 Proz. Glukose entstanden stets 2 bis 3 Hexenringe. Für alle anderen Pilzspezies war die Menge der von ihnen gebildeten Säure nicht groß genug, um infolge ihrer Anreicherung auf die Hexenringbildung einen Einfluß auszuüben. Um diese Pilze zur Ringbildung zu zwingen, muß schon von vornherein im Nährsubstrat Säure resp. Alkali in bestimmter Konzentration vorhanden sein. Gab ich nur wenig Säure resp. Alkali zu, so traten eben keine Ringe auf, wie Tabelle I zeigt.

b) Kulturen auf Nährmedien, in welchen eine allmähliche Nahrungsabnahme stattfindet.

Wie ich oben ausführte, geschieht die Nahrungszufuhr auf einem gleichmäßigen Substrat von außen nach innen, infolge des durch die Ernährungstätigkeit des Pilzes hervorgerufenen Konzentrationsgefälles. In den folgenden Versuchen kam es mir darauf an, diese Nahrungszufuhr nach einiger Zeit des Wachstums zu sistieren. Dies gelang mir auf zwei Weisen, zunächst dadurch, daß ich die Pilze auf sehr dünnen (2 mm dicken) Glukose- oder

Pflaumensaftagarschichten kultivierte. Anfangs gediehen die Pilze alle sehr gut und zwar so lange als der Agar noch einigermaßen feucht war. Nach 4—5 Tagen nimmt die Nahrungszufuhr von außen nach innen allmählich ab, weil der Agar relativ trocken geworden ist. Schließlich hört der Diffusionsstrom überhaupt auf. Damit ist nun die Fruktifikationsbedingung eingetreten. In allen Kulturen, die stets wieder bei konstanter Temperatur im Dunkelzimmer gehalten wurden, bildete sich je ein typischer Fruchtring. Nur *Aspergillus niger* bildete keinen Hexenring. Es lag in der Anordnung des Versuchs, daß immer nur ein Ring entstand, denn das Mycel konnte nach der ersten Fruktifikation nicht mehr weiterwachsen.

Dieselben Diffusions- und Ernährungsbedingungen, wie in den dünnen Agarschichten, erreichte ich dadurch, daß ich die Pilze auf Filtrierpapier impfte, das mit den betreffenden Nährlösungen getränkt war. Auch bei all diesen Versuchen trat stets ein sehr deutlicher Fruchtring auf. Sogar *Aspergillus niger* bildete auf Filtrierpapier mit 0,5-proz. Glukoselösung einen Hexenring.

Die zweite Methode, um nachzuweisen, daß relative Nahrungsabnahme die Ringbildung auslöst, ist folgende: Solange der Agar noch flüssig war, gab ich rings am Rande der Petrischale ungefähr eine 1 cm breite Schicht von feinem Quarzsand zu. *Hypocrea rufa* war allein für den Versuch geeignet, weil dieser Pilz ein rasches Wachstum zeigt und ein ziemlich kräftiges Mycel bildet. Wurde er nun auf Pflaumensaftagar mit einem solchen Quarzsandring geimpft, so bildete er $\frac{1}{2}$ cm vor dem Quarzsandring einen vollständigen Fruchtring. Der Quarzsandring hält nämlich, höchstwahrscheinlich infolge seiner, wenn auch geringen Adsorptionskraft, Pflaumensaft fest, so daß in der Umgebung des Quarzsandes der Diffusionsstrom von außen nach innen allmählich aufhört.

Ähnliche Bedingungen entstehen auch dann, wenn zwei Pilze einander entgegenwachsen. Sie entziehen sich gegenseitig die Nahrung. Im Substrat bilden sich dann zwei Diffusionsströmungen aus, die entgegengesetzt zueinander gerichtet sind. Wächst z. B. *Penicillium claviforme* (Coremium) von mehreren Impfstellen aus auf einem 3-proz. Agar, so treten immer da, wo die Pilzmycelien einander treffen, Koremien auf. Nie berühren sich dabei die Pilzmycelien, auch bilden nie beide Mycelien Koremien, sondern immer nur eines. Ich erkläre mir diese Erscheinung so, daß, wenn das eine Mycel einmal begonnen hat, Koremien zu bilden, so verbraucht es allein den Rest der noch vorhandenen Nährlösung. Zu dieser Ansicht wurde ich geführt, weil in Kulturen, in denen das eine Mycel infolge späterer Impfung jünger war als das andere, stets das jüngere, lebenskräftigere Mycel Koremien bildete. Massart hat ähnliche, gegenseitige Beeinflussung von Pilzmycelien bei Hutpilzen beobachtet. Die anderen *Penicillium*-spezies zeigen an der Grenzstelle keine reichlichere Fruchtbildung. Die Pilze wuchsen nämlich sehr langsam, ihre Sporenproduktion nahm mehr und mehr ab. Bis sich die beiden Mycelien endlich trafen, waren sie infolge der steten Nahrungsabnahme schon so geschwächt, daß ihnen eine reiche Sporenproduktion unmöglich war. Nur dann, wenn das eine Mycelium einer rascher wachsenden Pilzspezies, etwa dem *Penicillium claviforme*, angehörte, trat an diesem reichlichere Sporenbildung ein.

Das Ergebnis all dieser Versuche kann ungefähr folgendermaßen zusammengefaßt werden: Auf gleichmäßigem Substrat dehnt sich der Pilz nach allen Seiten hin auch gleichmäßig aus. Hexenringbildung tritt dann

ein, wenn durch die Lebenstätigkeit des Pilzes ein schon von vornherein im Substrat vorhandener, die Nahrungsaufnahme hemmender Stoff relativ angereichert wird, oder wenn die dem Pilz dargebotene Nahrung durch irgendwelche Umstände rasch abnimmt.

II. Einfluß der Transpiration und Temperatur.

Als den Hauptfaktor für die Hexenringbildung der Schimmelpilze haben die schon in der Einleitung angeführten Forscher den Wechsel von Licht und Dunkelheit erkannt. Wie weitgehend dieser Einfluß ist, mag uns die folgende Tabelle schildern:

Tabelle II.

Agar +	Hypocrea rufa		Acrostalag- mus cinna- barinus		Penicillium spec.		Cephalo- thecium roseum		Aspergillus niger	
	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel
Pflaumensaft	R	O	R	O	R	O	R	O	R	O
Glukose 0,5%	R	O	R	O	R	O	R	O	R	O
1%	R	O	R	O	R	O	R	O	R	O
2%	R	O	R	O	R	O	R	O	R	O
3%	R	O	R	O	R	O	R	O	R	O
Galaktose 1%	R	O	R	O	R	O	R	O	R	O
2%	keine deutl. R	O	—	O	R	O	R	O	R	O
2% Maltose	—	—	R	O	R	O	—	—	R	O
2% Pepton + 2% Glukose	R	O	R	O	keine Früchte		—	—	R	O
3% Pepton	keine Früchte		R	O	keine Früchte		—	—	—	—

R = Ringe; O = keine Ringe.

Die Dunkelkulturen wurden bei einer konstanten Temperatur von 20° im Thermostaten gehalten. Die Lichtkulturen waren dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt.

Ich legte mir nun die Frage vor: Wirkt das Licht direkt als solches, oder sind es Transpirations- oder Temperaturerhöhung, welche die Ringbildung herbeiführen?

Um einen Einblick in die Wirkung des Lichts zu bekommen, setzte ich die Pilzmycelien verschiedenfarbigem Licht aus. Zugleich mußten diese Versuche auch eine Entscheidung herbeiführen zwischen der Ansicht Gallemaerts und der von Hedgcock. Ersterer schreibt den verschiedenen Spektralfarben keine verschiedene Wirkung auf die Hexenringbildung zu, während Hedgcock die blauen Strahlen als die dabei wirksamen ansieht.

Ich brachte die Kulturen unter zwei Senebiersche Glocken, von denen die eine mit Kaliumbichromat-, die andere mit Kupferoxydammoniaklösung gefüllt war. Als dritte Versuchsreihe stellte ich dieselben Pilzspezies unter eine mit reinem Wasser gefüllte Senebiersche Glocke. Alle drei parallelen Kulturreihen wurden dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt. Das Ergebnis war in allen dreien dasselbe. Auf demselben Nährboden bildete dieselbe Pilzspezies, sowohl unter der roten wie unter

der blauen und farblosen Glocke, dieselbe Anzahl Ringe. Damit sind die Befunde Gallemaerts bestätigt. Man darf aber aus dieser Tatsache nicht schließen, daß das Licht kein spezifischer Faktor für die Ringbildung ist. Um nachzuweisen, daß die Entstehung der Hexenringe lediglich abhängt von den Schwankungen der Transpiration und Temperatur, mußte gezeigt werden, daß durch Aufheben dieser Faktoren am Licht die Ringbildung ausbleibt, sie aber im Dunkeln durch Einschalten dieser Faktoren hervorgerufen wird.

1. Verhinderung der Ringbildung bei Wechsel von Licht und Dunkelheit.

Die bekannten Nebenwirkungen des Lichts sind Erhöhung der Transpiration und der Temperatur. Stellen diese die Hauptfaktoren für die Ringbildung dar, so wird, wenn ich sie ausschalte, die Entstehung der Hexenringe auch dann unterbleiben, wenn die Kulturen dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt werden.

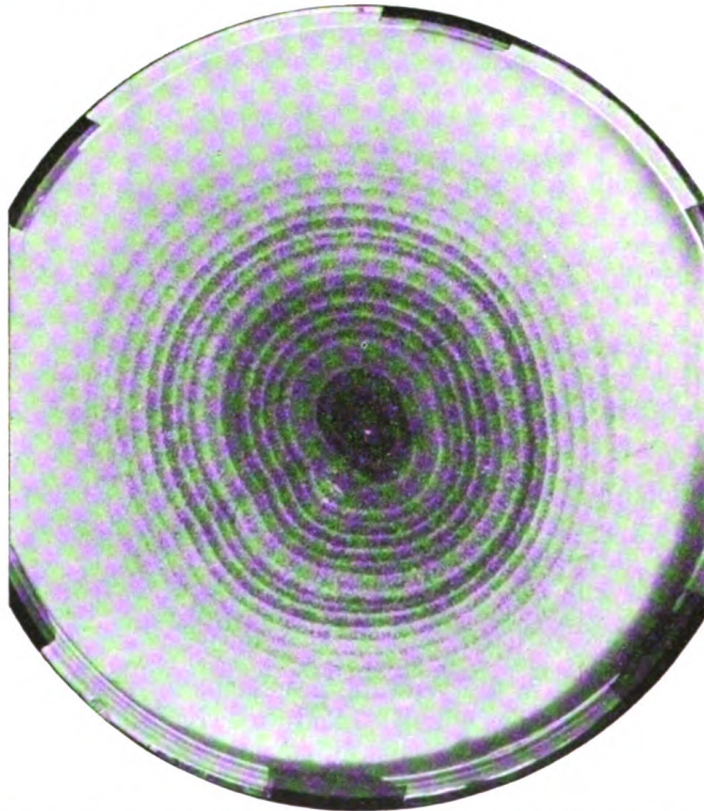


Fig. 4. *Acrostalagmus cinnabarinus* auf 2-proz. Glukose-Agar. a) Kultur dem Wechsel von Licht und Dunkel ausgesetzt.

Den Einfluß der Transpiration und Temperatur hob ich so gut wie möglich dadurch auf, daß ich die Petrischalen in einen Glaszylinder brachte, der teilweise mit Wasser gefüllt war. Die untere Hälfte seiner Wandung versah ich noch mit einem Belag von Filtrierpapier und tränkte dieses ebenfalls mit Wasser. Dadurch schuf ich einen beinahe vollständig mit Wasserdampf gesättigten Raum. Die relative Feuchtigkeit schwankte von

96 Proz. bis 100 Proz. Um eine möglichst konstante Temperatur zu schaffen, stülpte ich über den Zylinder eine Glasglocke, über welche ich mittels eines Zerstäubers Wasser rieseln ließ. Die Temperatur schwankte dadurch nur zwischen 14,5° und 16° C. Den ganzen Apparat stellte ich im Hofe des botanischen Instituts auf, so daß tagsüber die Kulturen allseitig vom Licht bestrahlt wurden. Die Witterung war für diesen Versuch ebenfalls sehr günstig. Der Himmel war beinahe während der ganzen Dauer (1 Woche) desselben mit Wolken bedeckt. Die Schwankung von Temperatur und Feuchtigkeit war also auch schon außerhalb des Glaszylinders relativ gering. Gleichzeitig machte ich noch 3 Parallelversuche, nämlich unter den schon oben angeführten Senbierschen Glocken. Das Ergebnis war folgendes: Alle Kulturen, die im dampfgesättigten Raum und bei relativ konstanter Temperatur gehalten worden

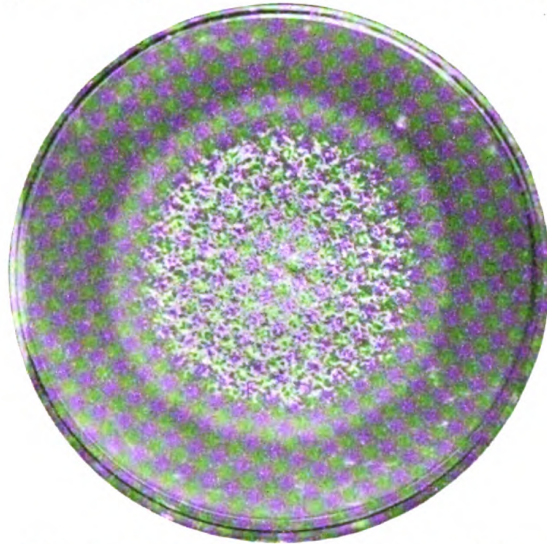


Fig. 5. b) Kultur bei 20° C im Dunkeln gehalten.

waren, bildeten keine Ringe, wenn sie dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt wurden. In den 3 Parallelversuchsreihen traten dagegen überall Ringe auf. Dieses Versuchsergebnis gilt wohl für alle Schimmelpilze, die am Licht reichlicher fruktifizieren als im Dunkeln. Die von mir daraufhin geprüften Pilze sind: *Hypocrea rufa*, *Acrostalagmus cinnabarinus*, *Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *Cephalothecium roseum* und verschiedene *Penicillium* spec.

2) Erzeugung von Ringen im Dunkeln.

Dieses Kapitel behandelt zwei Versuchsreihen, a) durch Transpirationserhöhung, b) durch Temperaturerhöhung Ringbildung herbeizuführen. Alle Versuche wurden im Dunkelmzimmer ausgeführt. Als Nährsubstrat wurde meist Pflaumensaftagar, doch auch häufig 2-proz. und 3-proz. Glukoseagar verwendet.

a) Einfluß der Transpiration.

Wie aus Tabelle II zu ersehen ist, trat im Dunkeln bei konstanter Temperatur keine Ringbildung auf, wohl aber bildeten sich Sporen, deren Träger gleichmäßig, ja in vielen Fällen (*Penicillium claviforme*, *Cephalothecium roseum*) schön strahlenförmig angeordnet waren. Diese Erscheinung hat ihren Grund darin, daß es wohl überhaupt nicht gelingt, bei Agar- und Gelatinekulturen die Transpiration völlig aufzuheben. *Hypocrea rufa* macht eine Ausnahme. Ihr Mycel bedeckt das ganze Nährsubstrat und bildet erst, wenn es den Rand der Petrischale erreicht hat, Früchte, und auch dort erst, nachdem es am Glasrand ein wenig emporgekrochen war. Höchstwahrscheinlich ist auch hier außer dem Nahrungsmangel die Transpiration von Bedeutung für die Sporenbildung. All diese

Vermutungen über den Einfluß der Transpiration auf die Sporenbildung erhalten erst dadurch Wahrheitswert, daß es gelungen ist, durch Steigerung der Transpiration die Sporenproduktion ebenfalls zu erhöhen.

Ich kultivierte *Cephalothecium roseum*, *Aspergillus niger*, *Acrostalagmus cinnabarinus*, die *Penicillium spec.* und *Hypocrea rufa* auf den oben angeführten Nährböden bei

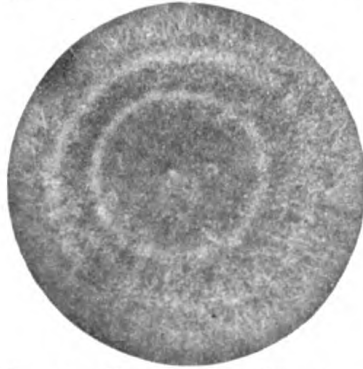


Fig. 6. Hexenringe, die durch künstliche Erhöhung der Transpiration erhalten wurden. *Acrostalagmus cinnabarinus*.

einer konstanten Temperatur von 20° C. Nach dem das Mycelium ungefähr die Hälfte der Petrischale bedeckt hatte, brachte ich immer je eine Kultur unter den Rezipienten und leitete einen Luftstrom über sie hinweg. Dies geschah dadurch, daß ich die Luft zunächst durch das Wasser einer Waschflasche saugte, dann in den Rezipienten leitete und dort mittels eines Glasrohres über die Kultur wegpumpte. Als Luftpumpe diente mir eine Wasserstrahlpumpe. Infolge dieser Anordnung erhielt ich einen gleichmäßigen Luftstrom über der Kultur, welcher die Transpiration bedeutend steigerte. Dieser Luftstrom veranlaßte die *Penicillium spec.*, *Aspergillus niger* und *Cephalothecium roseum*, die schon vorher



Fig. 7. *Cephalothecium roseum*.

Konidien abgeschnürt hatten, zu einer verstärkten Sporenbildung am Rande der Myceldecke. Bei *Hypocrea rufa*, *Acrostalagmus cinnabarinus* und *Aspergillus ochraceus* wurde durch den Luftstrom überhaupt erst Konidienbildung ausgelöst, aber auch nur am Rande der Myceldecke. Kurz, der Luftstrom führte in beiden Fällen die Ent-

stehung eines Hexenrings herbei. Damit ist nun der wichtige Einfluß der Transpiration auf die Hexenringbildung nachgewiesen und zugleich gezeigt, in welcher Weise sie wirkt. Nicht alle Hyphenzellen, sondern nur die am Rande der Myceldecke gelegenen, vermögen ihre Transpiration zu erhöhen und Konidien abzuschneiden. Die Zellen in der Mitte der Myceldecke befinden sich in einem Starrezustand oder sind schon abgestorben.

Ich habe den Luftstrom meist nur 10 Stunden auf den Pilz einwirken lassen, und diesen dann wieder bei konstanter Temperatur weitergezüchtet. Die Folge davon war, daß der Pilz jetzt wieder nur vegetatives Mycel bildete, oder wie die *Penicillium* spezie oder *Cephalothecium* Sporen in derselben Dichte wie vor dem Versuch abschnürte. Wurde der Pilz dann nach einiger Zeit nochmals unter den Rezipienten gebracht, so bildete sich ein zweiter Ring usw. Ließ man aber den Pilz längere Zeit (1—2 Tage) unter dem Luftstrom wachsen, so trat eine allmähliche Abnahme der Sporenproduktion ein. Um einen neuen Ring zu erzeugen, mußte man das Mycel zuvor wieder unter gewöhnlichen Bedingungen im Thermostaten wachsen und sich erholen lassen.

Ganz besonders hübsche Hexenringe bildet *Penicillium claviforme* (Coremium). Während es im Thermostaten nur gewöhnliche Konidienträger bildete, bestanden die Ringe, die ich unter dem Luftstrom erhielt, ausschließlich aus Koremien, die dicht gedrängt nebeneinander standen.

Alle diese Versuche stellen zugleich von neuem eine Bestätigung der Ansicht von Klebs dar, wonach die Transpiration einer der wichtigsten Faktoren bei der Sporenbildung der Pilze ist.

b. Einfluß der Temperatur.

Der zweite Faktor bei der Einwirkung des Lichts auf das Wachstum der Pilze ist, wie schon oben erwähnt, die Wärmezufuhr. Ihr Einfluß auf die Sporenbildung ist nun aber von einer gewissen Doppelnatur: Erstens erhöht sie die Transpiration, weil mit zunehmender Temperatur die relative Feuchtigkeit abnimmt; zweitens wirkt sie bis zu einer gewissen Grenze überhaupt fördernd auf die Lebensvorgänge der Pilze ein. Es ist schwer, diese beiden durch Temperaturerhöhung hervorgerufenen Prozesse am Pilz zu trennen. Ich war deshalb mehr oder weniger darauf angewiesen, stets Parallelversuche zum Vergleich anzustellen.

Alle oben angeführten Pilze außer *Hypocrea rufa* wurden zunächst auf Pflaumensaftagar bei einer konstanten Temperatur von 18° C kultiviert. Nachdem die Pilze einige Zeit gewachsen waren, teilte ich die Kulturen in 3 Reihen. Die erste Reihe wurde bei 18° C weiter kultiviert und die zweite bei 28° C. Die dritte aber abwechselnd in den Thermostaten mit der Temperatur 28° C gebracht. Es zeigte sich hierbei folgendes: Die Pilzmycelien, die bei 18° C konstant weiter gezüchtet wurden, zeigten keine Ringbildung, sondern entweder gleichmäßige Sporenverteilung oder nur vegetatives Mycel; die Kulturen, die von 18° C auf 28° C gebracht worden waren, zeigten einen breiten

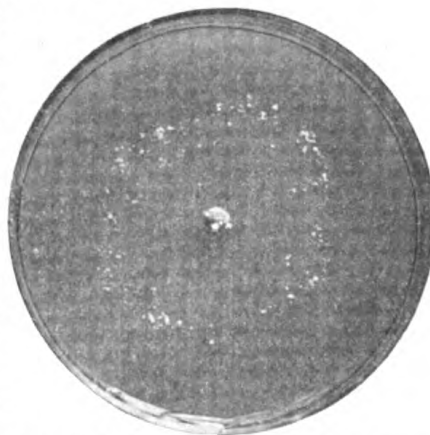


Fig. 8. Hexenringe, die infolge Temperaturerhöhung entstanden.
Hypocrea rufa.

Hexenring, der nur nach innen scharf abgegrenzt war, nach außen aber eine allmähliche Abnahme der Konidien aufwies; die dritte Versuchsreihe aber hat entsprechend dem n-maligen Temperaturwechsel n-Hexenringe gebildet. So konnte ich z. B. *Cephalothecium* durch zweimaligen Temperaturwechsel zur Erzeugung von zwei deutlichen Hexenringen veranlassen (Fig. 9). Bei den *Penicillium* spec. habe ich 4 Ringe durch 4-maliges Erhöhen und wieder Erniedrigen der Temperatur hervorrufen können. Auch umgekehrt konnte ich eine ringförmige Abnahme der Konidienmenge beobachten, wenn ich *Penicillium* zunächst bei 28° C keimen ließ und dann auf eine Temperatur von 18° brachte.

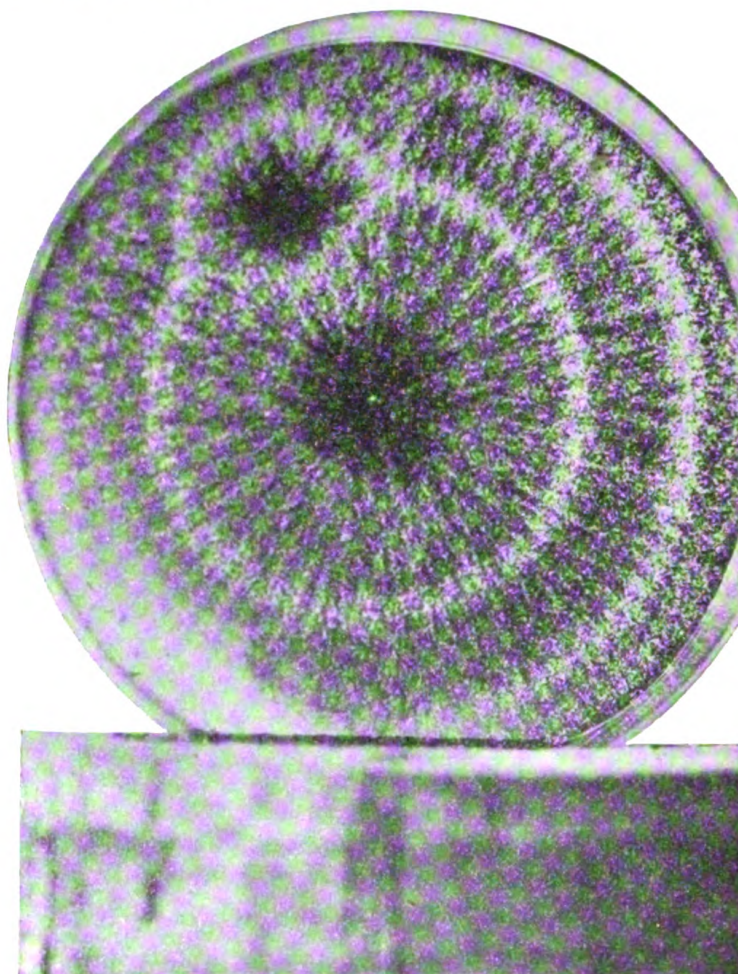


Fig. 9. *Cephalothecium roseum*.

Die Ergebnisse dieser Versuche stehen im Widerspruch zu den Angaben, die Gallemaerts über den Einfluß der Temperaturschwankung macht. Dieser Forscher hielt seine Dunkelkulturen in schwarzen Schachteln am Fenster und setzte sie dem Wechsel der Tages- und Nachttemperatur aus, dabei konnte er keine Ringe beobachten, weil offenbar die Temperaturschwankung zu gering war. Im weiteren Verlauf seiner Arbeit führt er 2 Versuche an, in denen er jeweils bei konstanten Lichtbedingungen Ringbildung beobachten konnte: Höchstwahrscheinlich waren es hier Temperaturschwankungen,

die diese Ringe hervorriefen. Einen Versuch mit *Cephalothecium* führt er an, bei welchem eine Temperaturschwankung von 9° C keine Ringbildung verursachte. Wahrscheinlich war bei diesem Versuch der Pflaumen-saftagar zu konzentriert, auf dem er *Cephalothecium* züchtete. Die Fähigkeit, auf Temperaturwechsel zu reagieren, ist abhängig von der vorangegangenen Ernährung. Wurde aus einem Pfund Pflaumen 1 Liter Saft gewonnen und davon der Agar hergestellt, so waren fast alle Pilze, die auf diesem Agar wuchsen, gleich stark empfindlich für eine Temperaturschwankung von 18° C auf 28° C. Ebenso auf Agar + 2 Proz. Glukose. Nur *Hypocrea rufa* macht eine Ausnahme. Den Einfluß der Konzentration des Nährmediums auf die Reizfähigkeit gebe ich in Tabelle III an.

Tabelle III.

Kulturen, die einer Temperaturschwankung von 18° C auf 28° C unterworfen wurden.

Agar + x% Glukose	%	0,25%	0,5%	1%	2%	3%	10%
<i>Penicillium claviforme</i>	O	O	O	R	R	R	R kaum angedeutet
<i>Penicillium spec. A</i>	O	O	O	R	R	R	R kaum angedeutet
<i>Penicillium spec. B</i>	O	O	O	R	R	R kaum angedeutet	O
<i>Citromyces spec. α</i>	O	O	O	R	R	R kaum angedeutet	O
<i>Acrostalagmus</i>	O	O	O	R	R	R	R
<i>Aspergillus niger</i>	O	O	O	O	R	R	O
<i>Cephalothecium</i>	O	O	O	R	R	R	O

R = Ringe; O = keine Ringe.

Diese Tabelle lehrt uns, daß mit zunehmender Konzentration die Reaktionsfähigkeit auf Temperaturreize zunimmt bis zu einem gewissen Optimum der Konzentration hin, dann aber wieder abnimmt und bei einer bestimmten Maximalkonzentration des Nährstoffs ganz aufhört. Infolge der Temperaturerhöhung ist in allen Kulturen die relative Feuchtigkeit um dasselbe Maß verringert worden, aber trotz allgemeiner Steigerung der Transpiration trat nur in den Kulturen Hexenringbildung ein, wo dem Pilz eine optimale Konzentration von Nährstoffen zur Verfügung stand. Wahrscheinlich wurde durch die Temperaturerhöhung nicht allein die Transpiration, sondern vor allem die Nahrungsaufnahme und auch die Atmung gesteigert. Die Folgen dieser verstärkten Nahrungsaufnahme ist Zunahme sowohl des vegetativen Wachstums, als auch der Sporenbildung. Da aber auch gleichzeitig die Atmung zunimmt, so wird von der aufgenommenen Nahrung bei höherer Temperatur eine größere Menge abgebaut, als bei niedriger Temperatur. Deshalb wird auf dem Nährmedium, auf welchem die Nahrungsaufnahme sehr erschwert ist, bei Temperaturerhöhung keine Hexenringbildung eintreten, denn infolge der Steigerung der Atmung bleiben zur Sporenbildung dem Pilz ungefähr ebensoviel Stoffe zur Verfügung, wie bei niedriger Temperatur. Daraus erklärt sich, daß auf Agar mit geringer Glukosekonzentration, wo die Nahrungsaufnahme an und für sich gering ist, und auf solchem mit hohem Glukosegehalt, wo sie durch hohen osmotischen Druck erschwert wird, bei Temperaturerhöhung keine Hexenringe entstehen (vergl. Tabelle III). Wenn aber soviel Nährstoffe aufgenommen werden können, daß die durch Atmung verbrauchte Menge relativ gering ist, entstehen bei Temperaturschwankungen auch Hexenringe, wie das die Kulturen bei optimaler Konzentration des Nähr-

substrats zeigen. Aus diesen Versuchen darf also gefolgert werden, daß der Haupteinfluß der Temperatur auf die Hexenringbildung höchst wahrscheinlich in der Steigerung der Nahrungsaufnahme des Pilzes besteht und weniger in der Erhöhung der Transpiration.

Der einzige Pilz, von all den oben angeführten, der nicht auf einen Temperaturwechsel von 18° auf 28° mit Ringbildung antwortete, war *Hypocrea rufa*. Die Reaktionsfähigkeit ist nicht nur abhängig von dem Nährmedium, sondern auch von der Größe des Temperaturunterschieds und von der Höhe der Temperatur, in welcher die Pilze von vorneherein gezüchtet wurden. So bildete *Hypocrea rufa* z. B. dann einen Fruchtring, wenn ich diesen Pilz auf einem 1 proz. Agar kultivierte und die Temperatur von 8° C auf 14° C erhöhte. Die *Penicillium* arten und *Acrostalagus cinnabarinus* erzeugten schon Hexenringe bei einer Temperaturschwankung von 18° auf 22°, dagegen war für *Aspergillus niger* und *Pestalozzia palmarum* eine solche von 18° C auf 27° C nötig. Das Kulturmedium für die letzteren Versuche war 1 proz. und 2 proz. Glukoseagar.

Weitere Untersuchungen über die Reaktionsfähigkeit der Pilze auf Temperaturwechsel fallen außerhalb der Grenzen dieser Untersuchung. Das Resultat des zweiten Teils dieser Arbeit kurz zusammengefaßt lautet: Es ist nicht das Licht, als spezifischer Faktor, welches die Hexenringbildung bei Schimmelpilzen herbeiführt, sondern es sind Transpirations- und Temperaturschwankungen, welche in den Kulturen, die dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt werden, Ringbildung auslösen.

Schlußbemerkungen.

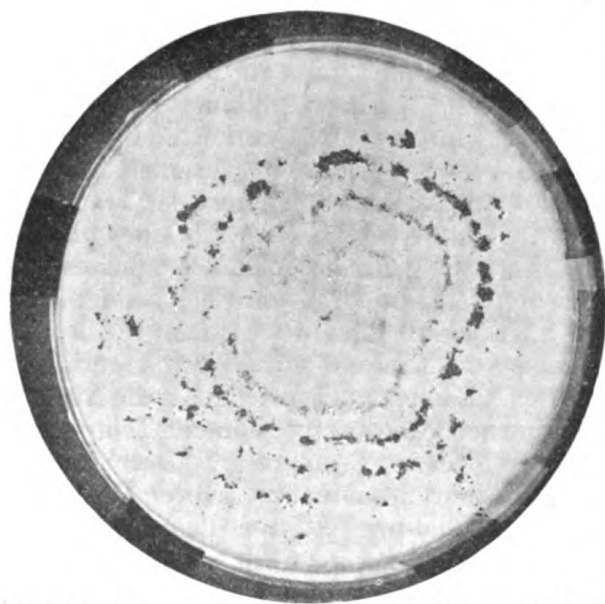


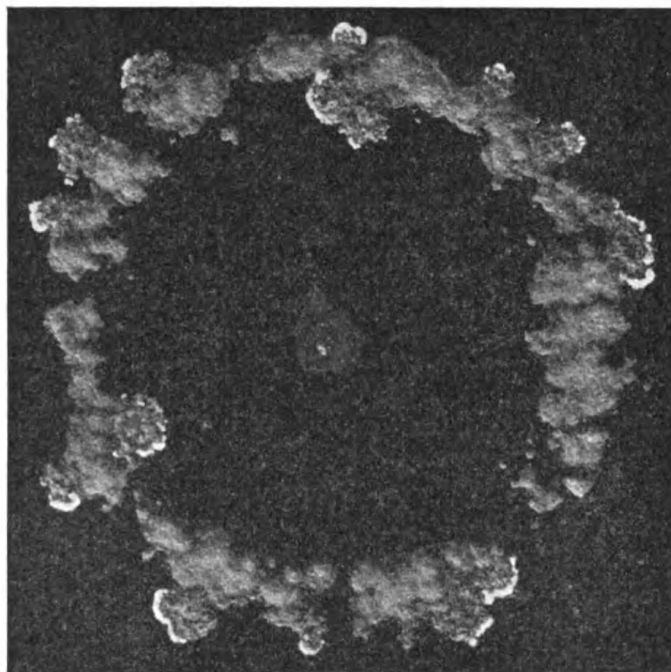
Fig. 10. *Hypocrea rufa* auf Agar + 2 Proz. Glukose + 7% Glyzerin dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt (8 Tage alte Kultur).

In großen Zügen nur hat obige Untersuchung die Frage nach den Bedingungen der Hexenringbildung gelöst. Selbstverständlich sind für jede Pilzspezies die angeführten Faktoren der Ringbildung von verschieden großer Bedeutung, und es muß weiterer Einzelforschung überlassen werden, dieselben aufzufinden. So wirkt z. B. auf *Pestalozzia palmarum* Temperaturerhöhung, auf *Penicillium claviforme* dagegen Transpirationsänderung als beinahe ausschlaggebende Bedingung für die Ringbildung.

Für all die Pilze, bei welchen die Anzahl der Ringe der Anzahl der Tage entsprechen, während welchen sie kultiviert wurden, werden wohl die Transpiration und die Temperatur allein die Ringbildung herbeiführen. Dagegen bei *Hypocrea rufa*, *Ascochyta chrysanthemi* Stevens, den Stevens und Hall untersucht haben, bei anderen Arten, bei denen

nicht je ein Ring dem Wechsel von Tag und Nacht entspricht, werden nur unter dem Zusammenwirken von Nahrungsabnahme, entwicklungshemmenden Stoffen, Transpirations- und Temperaturänderung, d. h. also von allen möglichen Faktoren, Hexenringe entstehen können. So bildet *Hypocrea rufa* auf Pflaumensaftagar auch am Licht sehr selten Ringe. Gibt man dem Pflaumensaftagar aber 5 bis 10 Proz. Glycerin oder Alkali, die, wie wir gesehen haben, entwicklungshemmend wirken, so erzeugt *Hypocrea* entsprechend dem Wechsel von Tag und Nacht viel eher und leichter Hexenringe.

Im Grund genommen sind ja aber all diese äußeren Einflüsse nur von indirekter Wirkung auf die Sporen- und damit natürlich auch auf die Ringbildung, d. h.: all diese äußeren Bedingungen dürfen nicht als spezifische formative Reize angesehen werden, sondern sie bestimmen wohl alle ein und dieselbe innere Bedingung, und erst diese löst dann die Fruktifikation aus. Diese innere Bedingung ist nun, wie Klebs in seinen



Betrachtungen, „Über Probleme der Entwicklung“ (1904) vermutet, die Konzentrierung organischer Stoffe, vor allem von Kohlehydraten und verwandten Substanzen im Zellsaft und Protoplasma. Die durch Zunahme der Temperatur gesteigerte Nahrungsaufnahme, die infolge besonderer Diffusionsverhältnisse hervorgerufenen Ernährungsbedingungen, die Erhöhung der Transpiration durch Licht oder Temperatur, sind alles Vorgänge und Prozesse im Leben der Pilze, die eine solche Konzentrierung der wesentlich plastischen Stoffe hervorrufen. Obige Versuchsergebnisse stellen deshalb auch neue Belege für diese Hypothese von Klebs dar.

Fig. 11. *Hypocrea rufa* auf Pflaumensaftagar dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt (8 Tage alte Kultur).

Obige Versuchsergebnisse stellen deshalb auch neue Belege für diese Hypothese von Klebs dar.

Resultate.

I. Die Bildung der Hexenringe wird hauptsächlich dadurch bedingt, daß sich das Pilzmycel in und auf einem homogenen Substrat nach allen Seiten hin gleichmäßig ausbreitet.

II. Es sind äußere Bedingungen, die die Ringbildung hervorrufen und zwar folgende:

1. Diffusionsbedingungen.

a) Wächst der Pilz auf einem Nährmedium, in welchem sich auch Stoffe befinden, die auf das Gedeihen des Pilzes verzögernd einwirken, so wird durch deren relative Anreicherung Ringbildung verursacht.

b) Die Anreicherung des Nährsubstrats mit solchen Stoffen kann auch durch den Pilz selbst erfolgen, vor allem dadurch, daß er das Substrat sauer oder alkalisch macht.

c) Auch direkter Nahrungsmangel, bedingt durch das Wachstum des Pilzes selbst, oder durch ein zweites ihm entgegenwachsendes Mycel, oder durch rings am Rande zugefügten, die Nährlösung adsorbierenden Quarzsand, erzeugt Ringbildung.

2. Bedingungen durch das Licht hervorgerufen.

a) Die Wirkungen des Lichts auf die Ringbildung sind indirekte, nämlich Erhöhung der Transpiration und der Temperatur.

b) Es gelang, diese auszuschalten, und dadurch in Kulturen, die dem Wechsel von Licht- und Dunkelheit ausgesetzt waren, die Ringbildung zu unterdrücken.

c) Im Dunkeln konnte erstens durch künstliche Steigerung der Transpiration, zweitens durch Erhöhung der Temperatur das Mycel zur Ringbildung veranlaßt werden.

Diese Arbeit wurde im botanischen Institut zu Heidelberg ausgeführt. Für ihre wissenschaftliche Förderung und Unterstützung möchte ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Klebs hierdurch aufrichtig danken. Ebenso sei Herrn Prof. Dr. Tischler und Herrn Privatdozent Dr. Buder auch an dieser Stelle für bereitwillige Unterstützung nochmals der beste Dank ausgesprochen.

Literatur.

- Gallemaerts, De la zonation des cultures de champignons en boite de Petri. (Recueil de l'institut. botan. Leo Errera. T. 8. 1910.)
 Hall siehe Stevens and Hall. 1909.
 Hedgcock, Zonation in artificial cultures of *Cephalothecium* and other fungi. (Missouri Botan. Garden. 17. Report. 1906.)
 Hutchinson, Über Form und Bau der Kolonien niederer Pilze. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 17. 1907.)
 Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. III. Allgemeine Betrachtungen. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. Bd. 35. 1900.)
 —, Über Probleme der Entwicklung. (Biolog. Centralbl. 1904.)
 Köhler, Beiträge zur Kenntnis der Reproduktions- und Regenerationsvorgänge bei Pilzen und der Bedingungen des Absterbens mycelialer Zellen von *Aspergillus niger*. (Flora. Bd. 97. 1907.)
 Küster, Keimung und Entwicklung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 26. a 1908.)
 —, Über chemische Beeinflussung der Organismen durcheinander. (Vorträge u. Aufsätze üb. Entwicklungsmechanik d. Organismen. Herausg. v. W. Roux. 1909.)
 Leininger, Zur Morphologie und Physiologie der Fortpflanzung von *Pestalotzia palmarum*. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 29. 1911. p. 668.)

- Massart, Sur les ronds de sorcière de *Marasmius breades* Fries. (Annal. d. jard. bot. de Buitenzorg. 1910.)
Medisch, Beiträge zur Physiologie der *Hypocrea rufa* (Pers.). (Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. 48. 1911.)
Milburn, Über Änderung der Farben bei Pilzen und Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 13. 1904. p. 129.)
Molz, Entstehung der durch *Sclerotinia fructigena* erzeugten Schwarzfäule der Äpfel. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 17. 1907.)
Reidemeister, Die Bedingungen der Sklerotien und Sklerotienringbildung von *Botrytis cinerea* auf künstlichen Nährböden. [Diss.] Halle 1908.
Stevens and Hall, Variation of fungi due to environment. (Botan. Gazette. Vol. 48. 1909.)
Thom, Cultural studies of species of *Penicillium*. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of animal Ind.-Bull. 118. 1910.)

Nachdruck verboten.

Die Stundengärleistung der Einzelzelle von *Bacterium lactis acidii*.

[Aus der landwirtschaftlichen Versuchsstation East Lansing des Staates Michigan¹).]

Von Otto Rahn.

Mit 1 Textfigur.

- I. Einleitung. Bedeutung der Stundengärleistung.
- II. Berechnung der Stundengärleistung.
- III. Begründung einiger in Kapitel II gemachten Annahmen.
- IV. Stundengärleistung verschiedener Stämme.
- V. Einfluß des Alters.
- VI. Einfluß der Ernährung.
- VII. Einfluß der Temperatur.

Einleitung.

Unter Stundengärleistung der Einzelzelle (kurz Stundenleistung genannt) verstehe ich diejenige Menge eines Stoffwechselproduktes, die von der durchschnittlichen Einzelzelle in einer Stunde produziert wird. Dieselbe kann in allen Fällen, wo ein Zählen der Bakterien und eine genaue Analyse des betreffenden Produkts möglich ist, mit ziemlicher Genauigkeit abgeschätzt werden. Es ist der Zweck dieser Arbeit darzulegen, daß die Stundenleistung ein wertvoller, vielleicht sogar notwendiger Faktor zum Verständnis verschiedener Gärungsvorgänge ist. Selbstverständlich wird sie dem Fabrikanten von Gärungsprodukten, dem Mikroorganismen lediglich das billigste Mittel zur Herstellung seiner Ware sind, nichts nützen. Dagegen kann sie wohl zum Verständnis von Gärungsvorgängen dienen, da sie uns die Berechnung des Gärvermögens der Einzelzelle, unabhängig von ihrer Vermehrung, ermöglicht. Die Frage, wie viel Substanz die Einzelzelle in einer gegebenen Zeit zersetzt, ist nicht so verwunderlich. Rubner²) sagt in seinen Studien über den Kraftwechsel der Bakterien:

„Wir würden es unbegreiflich finden, wenn jemand Studien über den Konsum von Nahrungsmitteln oder die Bildung von Stoffwechselprodukten

¹) Die Arbeit erscheint zugleich als Technical Bulletin No. 11 der Versuchsstation unter dem Titel: The fermenting capacity of the average single cell of *Bacterium lactis acidii*.

²) Rubner, Archiv für Hygiene. Bd. 48. 1904. p. 284.

an zwei verschiedenen Tierarten anstellen würde, ohne daß er sich vergewissert, wieviele Individuen von beiden Arten vorhanden seien, und welches Körpergewicht sie repräsentieren. Wenn demnach derartige, den Stoffwechsel betreffende Untersuchungen einen wirklichen Wert haben sollen, so müssen sie, wenn es eben nicht nur auf qualitative Unterschiede ankommt, mit *Erntebestimmungen* irgend welcher Art verbunden sein.“

Bei bakteriologischen Arbeiten scheint die Angabe des reagierenden Lebendgewichtes unmöglich zu sein, sowohl wegen der Kleinheit der Organismen als auch wegen des beständigen Wechsels in der Anzahl. Die Unmöglichkeit ist aber nur eine scheinbare; durch eine einfache mathematische Überlegung kann die stündliche Gärleistung der Durchschnittszelle gefunden werden. (Über einige frühere Versuche in dieser Richtung siehe Anhang.)

Die Bedeutung der Stundenleistung liegt in der hierdurch ermöglichten Trennung der beiden wesentlichsten Lebensfunktionen: Vermehrung und Gärung. Die von einer Kultur gebildete Säure- oder Toxinmenge ist das Werk vieler Zellen. Die Zahl der aktiven Zellen ist unbekannt, und selbst Zählungen würden nichts Greifbares ergeben, da sich die Zahl beständig ändert. Dennoch ist es wünschenswert, die durchschnittliche Zahl der beteiligten Zellen zu kennen und daraus die Menge der per Zelle und Stunde produzierten Stoffwechselprodukte zu berechnen. Viele Fragen physiologischer Natur könnten hierdurch beantwortet werden. Es ist z. B. niemals untersucht worden, ob die Optimaltemperatur für Gärung und Wachstum dieselbe ist. Diese Frage hat sogar ein gewisses praktisches Interesse. Sie kann nur durch Berechnung der Stundenleistung gelöst werden. — Um zu untersuchen, ob Toxine direkte Stoffwechselprodukte sind, muß festgestellt werden, ob ein vollkommener Parallelismus zwischen Zellwachstum und Toxinbildung besteht. Dies wird durch Berechnung der Stundenleistung wesentlich erleichtert. — Wenn eine Substanz die Gärung beschleunigt, so entsteht die Frage, ob lediglich das Gärvermögen jeder einzelnen Zelle oder die Vermehrungsgeschwindigkeit oder beide zugleich beeinflußt sind. Die Berechnung der Stundenleistung beantwortet die Frage.

Die Notwendigkeit einer Trennung zwischen Gärung und Vermehrung ist schon von *D u c l a u x*¹⁾ klargelegt worden:

„*Activité d'un ferment lactique.* — Imaginons que nous mettions en activité, au même moment, plusieurs fermentations identiques au point de vue des conditions extérieures, mais ensemencées avec des quantités égales de ferments lactiques différents. Si nous mesurons, par un moyen quelconque, la quantité d'acide lactique produite dans les premières 24 ou 48 heures, ces quantités pourront évidemment être prises comme mesure de l'activité des divers ferments fonctionnant dans les mêmes conditions. Il est bien entendu que l'activité, ainsi définie, dépend de ces conditions, que l'ordre dans lequel se rangent les ferments étudiés peut se modifier dans un autre milieu, à une autre température, etc.; mais cette activité, ainsi définie, dépend de la semence et, sans en être un caractère spécifique, n'en est pas moins un élément important à connaître.

C'est pourtant très rarement qu'elle a été mesurée. En général, l'expérience de comparaison dont nous venons de tracer le plan a été faite en introduisant, dans les ballons d'essai, non pas le même poids de ferment lactique déjà formé, suffisant pour donner en 24 heures un poids mesurable d'acide

¹⁾ *Traite de Microbiologie.* T. 4. 1901. p. 328.

lactique, mais la même quantité de semence, qui avait besoin de se développer avant de commencer à agir, de sorte que l'expérience superposait deux actions qui n'obéissent pas aux mêmes lois: 1. la puissance de multiplication; 2. l'activité du microbe. Il faut, pour mesurer l'activité seule, que la multiplication soit nulle ou au moins très réduite. On y arrive, ou à peu près, en mettant à l'avance une quantité de cellules vivantes voisine de celle que le même liquide fournit dans une fermentation sous le même volume, lorsqu'il a étéensemencé."

„Activité“ im Sinne *D u c l a u x* ist identisch mit der hier vorgeschlagenen Stundengärleistung, nur daß *D u c l a u x* das Lebendgewicht als Einheit wählt, während ich der Einfachheit wegen die Einzelzelle vorziehe.

Die Stundenleistung ist eigentlich nichts anderes als ein Maß für den Zymasegehalt der Zelle. Wenn zwei Stämme von Milchsäurebakterien verschiedene Mengen von Säure produzieren, so kann dies durch schnelleres Wachstum des einen Stammes, oder durch stärkeres Gärvermögen der einzelnen Zellen (Stundenleistung, Zymasegehalt) oder durch beides, oder durch schnelleres Wachstum trotz schwächeren Gärvermögens erklärt werden. Die Berechnung der Stundenleistung entscheidet zwischen den verschiedenen Möglichkeiten. Eine Verschiedenheit der Stundenleistung unter gleichen Kulturbedingungen bedeutet einen verschiedenen Zymasegehalt. Da es hierdurch möglich ist, den Zymasegehalt in den Zellen zu bestimmen, so könnte vielleicht auch die Enzymologie von dieser Methode gelegentlich Gebrauch machen. Gegenwärtig ist es beim Studium der Endoenzyme nötig, die Vermehrung der enzymhaltigen Zellen durch chemische oder physikalische Mittel zu unterdrücken, wobei gewöhnlich die sehr empfindlichen Endoenzyme in Mitleidenschaft gezogen werden. Meine Methode, die natürlich nur in besonderen Fällen anwendbar sein wird, ermöglicht die Trennung von Enzymwirkung und Vermehrung durch eine mathematische Formel, ohne im geringsten die natürlichen Kulturbedingungen zu ändern.

Die Stundenleistung der Einzelzelle ist in gewissem Sinne das, was von Bodenbakteriologen und Milchwirtschaftlern gelegentlich, mangels eines besseren Ausdrucks, als „Virulenz“ bezeichnet worden ist. In vielen Fällen ist in diesem Ausdruck aber auch die Vermehrungsgeschwindigkeit einbegriffen.

Die Vermehrungsgeschwindigkeit der Mikroorganismen wird gewöhnlich als *G e n e r a t i o n s d a u e r* gemessen. Unter Generationsdauer versteht man die Zeit, die eine Zelle zur vollständigen Zweiteilung braucht; man berechnet sie aus der Anfangs- und Endzahl der Bakterien unter der Annahme, daß die Vermehrung in geometrischer Reihe erfolgt. Die Generationsdauer ist natürlich nicht konstant, da mit dem Alter der Kultur die Vermehrung sich verlangsamt und schließlich stillsteht. Es ist jedoch möglich, in den jungen Kulturen unter vergleichbaren Bedingungen Resultate zu erhalten, die als charakteristisch für die betreffende Bakterienart angesehen werden müssen. Die Resultate mögen vielleicht nicht die tatsächliche Generationsdauer angeben, ja, wir wissen sogar, daß unsere mangelhaften Zählmethoden einen erheblichen Fehler verursachen, dennoch erhalten wir brauchbare Vergleichswerte, deren Zuverlässigkeit übrigens durch Parallelversuche leicht geprüft werden kann.

Mehr kann auch von der Berechnung der Stundenleistung nicht erwartet werden. Die erhaltenen Zahlen werden in der Mehrzahl der Fälle nicht die tatsächlich von einer Zelle gebildeten Produkte angeben; die Fehlerwahr-

scheinlichkeit der Zählmethoden und der chemischen Analyse sind zu groß. Immerhin erhalten wir brauchbare Vergleichswerte, deren Zuverlässigkeit leicht bestimmt werden kann.

II. Berechnung der Stundengärleistung.

Die Anzahl Zellen in einem Kubikcentimeter Nährsubstrat sei a . Nach der Zeit t haben wir b Zellen. Die Vermehrung erfolgt in der geometrischen Reihe

$$a \quad 2a \quad 2^2a \quad 2^3a \quad 2^4a \quad 2^na$$

Die Anzahl der Generationen n ergibt sich, falls a und b bekannt sind, aus der Gleichung

$$b = 2^na$$

$$n = \log_2 \frac{b}{a}, \text{ oder, auf Briggs Logarithmen}$$

umgerechnet,

$$n \times \log 2 = \log \frac{b}{a}$$

$$n = \frac{\log \frac{b}{a}}{\log 2}$$

Die Zeit, welche eine Zelle durchschnittlich zur Verdoppelung braucht, ist die Generationsdauer y . Die Generationsdauer, multipliziert mit der Anzahl der Generationen n , ergibt die gesamte Versuchszeit t .

$$y n = t$$

$$y = \frac{t}{n}$$

$$y = \frac{t \log 2}{\log \frac{b}{a}}$$

Die durchschnittliche Menge Milchsäure, die von einer Zelle in einer Stunde produziert wird, nennen wir x . x ist also die Stundengärleistung. a Zellen produzieren dann in einer Stunde ax , und in einer Generation axy Milchsäure. Die folgende Generation, $2a$ Zellen, bilden natürlich während der Generationsdauer die doppelte Milchsäuremenge, $2axy$. Dann kommt die dritte Generation, mit 2^2axy Milchsäure und so fort. Die Reihe ist

$$axy \quad 2axy \quad 2^2axy \quad 2^3axy \quad$$

Das letzte Glied dieser Reihe ist unbestimmt. Zwar kennen wir die Endzahl 2^na , aber wir wissen nicht, ob diese Anzahl soeben gebildet worden ist, ohne bisher Säure produziert zu haben, oder ob vielleicht diese Zahl schon lange gebildet war und zur neuen Teilung sich anschickte¹⁾. Im ersten Falle beträgt das Endglied der Reihe $2^{n-1}axy$, im zweiten 2^naxy . Die Wahl zwischen beiden ist willkürlich. Ich habe folgendermaßen entschieden. Am Anfang war — ebenfalls willkürlich — angenommen worden, daß die Impfmenge a die größtmögliche Säuremenge axy bildete, ehe die Teilung stattfand. Dementsprechend habe ich für das Endglied angenommen, daß die Endzahl $a2^n$

¹⁾ Tatsächlich teilen sich nicht alle Zellen zur gleichen Zeit, wie der einfacheren Rechnung wegen angenommen wurde. Dies, sowie die willkürliche Wahl des Endgliedes der obigen Reihe kann nur durch Anwendung der Integralrechnung vermieden werden. Ich hoffe darauf in einer späteren Arbeit ausführlich zurückzukommen.

soeben erst gebildet sei, ohne bisher Säure gebildet zu haben. Die beiden Annahmen gleichen sich bis zu einem gewissen Grade aus. Dadurch wird das Endglied der obigen Reihe $2^{n-1}axy$. Die gesamte Säuremenge ist dann

$$S = axy + 2axy + 2^2axy + \dots + 2^{n-1}axy.$$

Daraus ergibt sich nach der Summenformel der geometrischen Reihe

$$\begin{aligned} S &= axy (2^n - 1) \\ &= xy (a 2^n - a) \\ &= xy (b - a) \end{aligned}$$

oder die Stundenleistung $x = \frac{S}{y (b - a)}$

da $y = \frac{t \log 2}{\log b/a}$, so ist

$$x = \frac{S \log b/a}{t (b - a) \log 2}$$

Dies ist die Endformel für die Stundengärleistung.

III. Begründung der in Kapitel II gemachten Annahmen.

Bei der Berechnung der obigen Formel sind stillschweigend drei Annahmen gemacht worden, die einer Begründung bedürfen. Diese Annahmen sind 1) daß Bakterien sich in geometrischer Reihe fortpflanzen, 2) daß die Bakterien in jungen Kulturen ein (nahezu) konstantes Gärvermögen haben. 3) daß die Einzelzelle die beste Einheit ist.

Tabelle I.

Gefundene und berechnete Vermehrung von *Bacterium A*, nach Müller.

Zeit	Gefundene Zellenzahl	Berechnete Zellenzahl
0 Stunden	1 370	(1 370)
4 "	1 650	2 010
8 "	2 160	2 940
12 "	2 860	4 310
24 "	8 000	13 530
28 "	11 600	19 820
32 "	17 500	29 000
36 "	27 900	42 500
48 "	79 400	133 700
52 "	130 000	196 000
56 "	180 000	287 000
60 "	273 000	425 000
72 "	1 353 000	1 320 000
76 "	1 956 000	(1 956 000)

Betreffs der Vermehrung der Bakterien in geometrischer Reihe liegen eine Anzahl von Arbeiten vor. Basenau¹⁾, Kossowicz²⁾, Müller³⁾, Rahn⁴⁾ kamen übereinstimmend zu dem Ergebnis, daß die Bakterien direkt nach der Überimpfung erheblich

¹⁾ Basenau, Arch. f. Hyg. Bd. 23. 1895. p. 44.

²⁾ Kossowicz, Zeitschr. f. d. landw. Versuchswes. Österreichs. Bd. 6. 1903. p. 275.

³⁾ Müller, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 20. 1895. p. 245.

⁴⁾ Rahn, dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 16. 1906. p. 417.

langsamer wachsen als einige Stunden später. Barber¹⁾ hat daraufhin mittels seiner zweifellos genaueren mikroskopischen Zählung gezeigt, daß diese Beeinträchtigung nicht vorhanden ist, sondern auf Fehler in der Plattenzählmethode zurückzuführen ist. Da jedoch alle Daten dieser Arbeit (aus später angeführten Gründen) mittels des Plattenverfahrens erhalten sind, so ist in den folgenden Seiten dargelegt, daß dieser Fehler vernachlässigt werden kann.

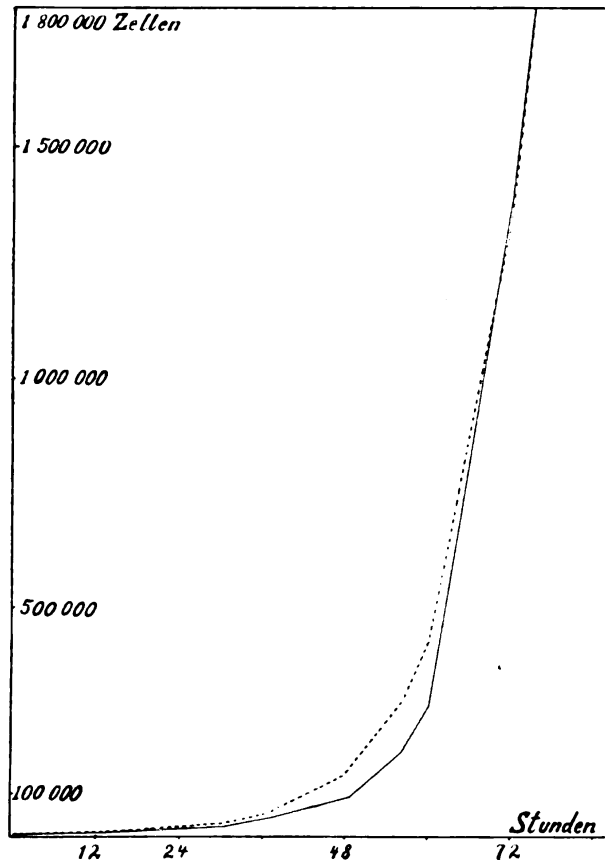


Fig. 1. Wachstum von *Bacterium A.* nach Müller. Die punktierte Linie gibt die theoretisch berechneten, die volle Linie die tatsächlich gefundenen Keimzahlen.

Die vorstehende Tabelle gibt die Zellzahlen eines Bakteriums A, in Bouillon zu verschiedenen Zeiten, nach Müller.

Die letzte Vertikalreihe gibt die Anzahl, wie sie sich unter der Annahme berechnet, daß die Vermehrung von der Anfangszahl bis zur Endzahl in geometrischer Reihe erfolgte.

Die anfängliche Wachstumsverzögerung ist unverkennbar, wie auch Figur I zeigt. Die folgende Tabelle II zeigt aber, daß diese Verzögerung bereits überwunden ist, wenn die Säuremenge meßbar wird. Die kleinste Generationsdauer, d. h. die schnellste Vermehrung tritt gerade dann ein, wenn sich die ersten Spuren von Milchsäure nachweisen lassen. Bei 0,4–0,5 Proz. Säure hört dann das Wachstum vollständig auf. Dieser Versuch ist mit *Bacterium lactis acidi* Stamm II in Milch ausgeführt. Die beiden

Versuche unterscheiden sich lediglich durch die Impfmenge.

Beide Versuche zeigen, daß die Vermehrung der Bakterien nicht streng der geometrischen Reihe folgt. Dies wird sich namentlich dann bemerkbar machen, wenn die Versuche über längere Zeit sich erstrecken. Daraus ergibt sich, daß die Versuche mit kurzer Versuchsdauer bessere Resultate geben. Ein anderer Ausweg zur Vermeidung des störenden Einflusses wäre die Berechnung der Verzögerung, für die man dann in der Formel für die Stundenleistung eine Korrektur anbringen könnte. Ich hoffe, hierüber in einer besonderen Arbeit zu berichten.

Die zweite Voraussetzung bei der Formelberechnung ist die Gärung unmittelbar nach vollzogener Überimpfung. Diese

¹⁾ Barber, Journ. of Infect. Diseases. Vol. 5. 1908. p. 379.

Voraussetzung steht im Widerspruch mit der Ansicht vieler Bakteriologen, welche glauben, daß nach der Übertragung einer Kultur in ein frisches Medium zuerst eine Periode des Wachstums folgt, worauf dann später, nachdem eine erhebliche Anzahl von Zellen vorhanden ist, die Gärung beginnt. Wann und wo diese Ansicht zuerst ausgesprochen ist, vermag ich nicht zu sagen, doch habe ich vielfach diese Ansicht äußern hören. In der Literatur trifft man solche Angaben selten, weil nur wenige Arbeiten sich mit solchen theoretischen Fragen beschäftigen. Als Beispiel will ich nur einige Sätze von K n ö s e l (dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 8. p. 272) anführen:

T a b e l l e II.
Bacterium lactis acidii in Milch.

	Bakterien per ccm	Säure %	Genera- tions- dauer	Bakterien per ccm	Säure %	Genera- tions- dauer
0 Stunden	38 000	0		38	0	—
3 „	200 000	0	74,8	183	0	79,0
6 „	1 710 000	0	58,1	1 750	0	55,0
9 „	19 600 000	0,007	50,8	23 250	0	52,7
12 „	113 000 000	0,018	70,9	301 000	0	48,5
15 „	435 000 000	0,086	92,2	4 800 000	0,005	45,1
18 „	1 135 000 000	0,263	130,1	43 200 000	0,011	56,8
21 „	1 370 000 000	0,434	663,0	177 000 000	0,027	88,5
24 „	1 550 000 000	0,479	1010,0	685 000 000	0,132	92,2
27 „	1 350 000 000	0,502	∞	1 240 000 000	0,338	210,3
30 „	1 300 000 000	0,524	∞	1 520 000 000	0,489	619,8
33 „	1 440 000 000	0,520	∞	1 390 000 000	0,527	∞
36 „	1 610 000 000	0,538	∞	1 750 000 000	0,531	∞

„Beide Lebensfunktionen (Vermehrung und Gärung) verlaufen nebeneinander; in der Regel geht jedoch, namentlich bei geringer Hefeausaat, der zuckerspaltenden Tätigkeit eine geringe Vermehrung voraus. Erst wenn letztere stattgefunden hat, tritt bemerkbare Gärung ein.“

Ähnliche Ansichten entwickelt C o n n in „Bacteria in Milk and Its Products“, 1903. Das sogenannte Inkubationsstadium der Milch, d. h. die Zeit, in der keine meßbaren Säuremengen gebildet werden, wird von einigen Bakteriologen als Beweis dafür angesehen, daß Gärung erst dann eintritt, nachdem die Bakterien sich bis zu mehreren Hunderttausenden vermehrt haben. Solche Äußerungen zeigen, wie solch ein Trugschluß zustande kommen kann. Nehmen wir die Daten der Tabelle II als Beispiel. 38 000 Bakterien per ccm am Anfang und 1,7 Millionen nach 6 Stunden, ohne jede Spur einer Säurebildung! Ist es nicht ganz offensichtlich, daß eine enorme Vermehrung ohne jede Säurebildung eingetreten ist? Durchaus nicht! Es muß vor allen Dingen die Zahl der Säurebildner beachtet werden, und eine Million Bakterien per ccm ist eine winzige Anzahl. Wir wissen, daß eine voll entwickelte Kultur von *Bacterium lactis acidii* zum mindesten eine Milliarde Zellen per ccm enthält. Es ist nun ein höchst einfaches Rechenexempel: Wenn eine Milliarde Zellen 0,8 Proz. Milchsäure bilden, so bildet eine Million Zellen in derselben Zeit 0,0008 Proz. Milchsäure, d. h. erheblich weniger als wir mit der üblichen Titriermethode feststellen können. Oder eine Million Zellen, die sich nicht vermehrten, würden 1000mal so viel Zeit brauchen, um dieselbe Säuremenge zu produzieren.

Die Inkubationsperiode von Milch und Kulturen *in vitro*¹⁾ ist also korrekt diejenige Periode, in der die Säure noch unmeßbar ist. Damit ist natürlich noch nicht bewiesen, daß Wachstum und Gärung in dieser frühesten Periode parallel gehen. Das kann auch nicht bewiesen werden, da unsere analytischen Methoden keine genaueren Säurebestimmungen zulassen. Wir sind lediglich auf Analogien angewiesen. Jedenfalls liegt kein Grund vor zu der Annahme, daß die Bakterien im ersten Entwicklungsstadium nicht gären. Sobald wir aus theoretischen Gründen eine meßbare Säuremenge erwarten können, finden wir sie. Alle meine Berechnungen zeigten, daß die per Zelle gebildete Säuremenge im ersten Wachstumsstadium am größten ist (siehe Abschnitt V). Warum sollten wir da, ohne einen greifbaren Grund zu haben, eine plötzliche Unterbrechung dieser Beziehungen zwischen Wachstum und Gärung annehmen? Wenn wir die Gärung als Kraftquelle für die Bakterien ansehen, dann ist es sogar unbedingt notwendig, daß zur Zeit des kräftigsten Wachstums auch die Säuremenge per Zelle am größten ist.

Die Einzelzelle als Einheit. Duclaux (l. c.) und Rubner²⁾ wählten für ihre Bestimmungen das Gewicht der Bakterienmenge als Einheit. Rubner begründet seine Methode durch den großen Unterschied zwischen den einzelnen Zellen, und er bestimmte daher alle Bakterien in seinen Stoffwechselversuchen durch Wägung mittels einer sehr mühsamen Methode. Dieselbe war für Rubners Zwecke notwendig, hat aber in dieser Arbeit wenig Wert, da vorwiegend mit jungen Kulturen gearbeitet wurde. Dagegen würde Rubners Wägungsmethode in diese Versuche einen unerwünschten Faktor einführen, denn das Gewicht ist keine verlässliche Einheit, da es durch Anhäufung von Fett, Glycogen oder anderen Reservestoffen sehr verschieden sein kann. In Milchkulturen würde Rubners Methode überhaupt nicht anwendbar sein.

Die Bestimmung der Bakterienzahl erfolgte ausschließlich mittels der Plattenmethode. Es ist unbestreitbar, daß die mikroskopische Zählmethode im allgemeinen genauer ist, doch konnte ich in den geronnenen Milchkulturen keine Übereinstimmung der Resultate erzielen, wie die folgenden Versuche zeigen.

Als Zählmethode wählte ich die von MacNeal³⁾, Letzer und Kerr benutzte; eine Öse des Materials wird zwischen zwei Deckgläsern ausgebreitet, getrocknet, gefärbt und dann unter dem Mikroskop gezählt. Der Gehalt der Öse wird durch Wägung bestimmt. Die Färbung erfolgte nach Gram, wegen des Milcheiweißes. Zwei verschiedene Stämme des *Bacterium lactis acidum* wurden abwechselnd geprüft. Da der Unterschied zwischen der Plattenmethode und der direkten Zählmethode bei alten Kulturen am größten ist, wurden Milchkulturen wiederholt neutralisiert und jedesmal titriert und gezählt. Die erste Versuchsreihe gab folgende Daten:

	Acidität	Platten- Zählung	Mikroskop. Zählung
Milchkultur 24 Stunden	76°	—	5 000 000 000
24 Stunden nach der ersten Neutralisation . .	84°	1 280 000 000	2 256 000 000
48 Stunden nach der zweiten Neutralisation .	92°	1 660 000 000	1 278 000 000

Derselbe Versuch mit einem andern Stamm gab folgende Resultate:

¹⁾ Die Inkubationsperiode im Tierkörper ist natürlich in diese Besprechung nicht einbegriffen.

²⁾ Arch. f. Hyg. Bd. 48. p. 260. Bd. 49. p. 355.

³⁾ Journ. of infect. Diseases. Vol. 6. 1909. p. 146.

	Acidität	Platten- Zählung	Mikroskop. Zählung
Milchkultur, 48 Stunden	64°	—	2 135 000 000
24 Stunden nach der ersten Neutralisation . .	46°	1 620 000 000	852 000 000
48 Stunden nach der zweiten Neutralisation .	52°	1 200 000 000	1 278 000 000

Die mikroskopische Zählmethode ist offenbar recht unbefriedigend, da eine Abnahme der Bakterienzahl unmöglich ist. Die großen Abweichungen sind wohl darauf zurückzuführen, daß mit einer geachteten Oese gearbeitet wurde. In den folgenden Versuchen wurde der Inhalt der Öse jedesmal bestimmt, indem 20 Ösen Milch aus einem Fläschchen entnommen wurden. Die Gewichts Differenz ergab den durchschnittlichen Inhalt der Öse. Diese Durchschnittswerte stimmen recht schlecht überein; sie betragen an 4 aufeinanderfolgenden Tagen 1,39 mg, 2,0 mg, 2,3 mg, 2,0 mg, während die ursprüngliche Eichung 1,7 mg ergeben hatte. Wenn schon die Durchschnittswerte von je 20 Ösen solche Unterschiede aufweisen, so muß man natürlich bei der einzelnen Öse, wie sie zur Zählung benutzt wird, noch erheblich größere Unterschiede erwarten. Dies zeigt denn auch die folgende Zahlenreihe:

		Acidität	Platten- Zählung	Mikroskop. Zählung
4. Juli	Milchkultur, 24 Stunden	58°	650 000 000	2 590 000 000
5. „	24 Stunden nach der ersten Neutralisation	66°	1 000 000 000	780 000 000
6. „	24 Stunden nach der zweiten Neutralisation	58°	1 480 000 000	1 909 000 000
7. „	24 Stunden nach der dritten Neutralisation	46°	2 450 000 000	1 985 000 000

Die Unterschiede können nur durch die verschiedene Konsistenz der Milch erklärt werden. Eine gleichmäßige Verteilung des Gerinnsels durch Schütteln ist nicht möglich; Verdünnung ist unzulässig, da sonst die Zahl der Bakterien im einzelnen Gesichtsfeld zu gering wird. Es bleibt also nur die Möglichkeit, die Milch jedesmal vor dem Zählen zu neutralisieren. Die folgende Reihe, bei der dies durchgeführt wurde, zeigt etwas bessere Übereinstimmung.

		Acidität	Platten- Zählung	Mikroskop. Zählung
11 Juli	Nach der ersten Neutralisation . . .	42°	180 000 000	2 250 000 000
12. „	Nach der zweiten Neutralisation . .	48°	1 250 000 000	2 380 000 000
13. „	Nach der dritten Neutralisation . .	38°	1 410 000 000	1 980 000 000

Der Öseninhalt betrug 1,60, 1,93 und 1,81 mg, der Fehler ist also geringer. Doch zeigt der Rückgang in der Bakterienzahl, daß auch diese Abänderung keine zuverlässigen Daten gibt. Da auch die mikroskopische Zählmethode bei jungen Kulturen vollständig versagt, wegen der geringen Zahl der Bakterien in den einzelnen Gesichtsfeldern, so wurde in allen Versuchen die Zahl der Zellen durch die gebräuchliche Plattenmethode bestimmt. Als Nährboden dienten Milchzuckergelatine, Molkengelatine und Lakmus-Laktose-Agar.

IV. Stundenleistung verschiedener Stämme von *Bacterium lactis acid.*

In der Einleitung ist darauf hingewiesen worden, daß die Stundenleistung keine konstante Größe ist, sondern mit dem Alter abnimmt. Vergleichbare Resultate können daher nur mit jungen Kulturen erhalten werden. Die Bedingungen würden vollständig gleich sein, wenn alle Versuche bei derselben Acidität abgebrochen würden. Dies ist freilich praktisch nicht ausführbar.

Zur Berechnung der Stundenleistung sind nur vier leicht bestimmbare Größen notwendig, die Anfangszahl, die Endzahl, die Säurezunahme und die Zeit. In der Literatur sind aber vollständige Angaben dieser vier Punkte äußerst selten. Besonders die Impfmenge ist fast niemals genau bestimmt worden. Die einzige größere Versuchsreihe mit Milchsäurebakterien, welche alle nötigen Daten enthält, ist die Arbeit von Marshall und Farrand ¹⁾ über die Beeinflussung der Milchsäurebakterien durch andere Bakterien. Die Reinkulturversuche sind in Tabelle III zusammengestellt und berechnet.

Tabelle III.
Stundenleistung verschiedener Stämme nach Marshall und Farrand.

Stamm		Bakterienzahl		Säure- Zunahme	Zeit in Stunden	Stundenleistung	
		anfangs	24 Stunden			einzel mg	Mittel mg
1	a	0,06 ²⁾	1 000 000 000	15 ⁰	53	$8,6 \times 10^{-10}$	$17,6 \times 10^{-10}$
	b	0,09 ²⁾	2 900 000 000	67 ⁰	65	$11,2 \times 10^{-10}$	
	c	0,02 ²⁾	243 000 000	27 ⁰	114	$28,9 \times 10^{-10}$	
	d	1340	117 000 000	9 ⁰	73	$15,6 \times 10^{-10}$	
	e	0,14	111 000 000	9 ⁰	72	$30,0 \times 10^{-10}$	
	f	7,65	453 000 000	28 ⁰	101	$14,0 \times 10^{-10}$	
	g	481	372 000 000	10 ⁰	67	$15,0 \times 10^{-10}$	
2	a	20	1 990 000 000	49 ⁰	93	$6,3 \times 10^{-10}$	$7,4 \times 10^{-10}$
	b	1270	4 180 000 000	58 ⁰	72	$3,8 \times 10^{-10}$	
	c	2750	2 300 000 000	40 ⁰	48	$6,4 \times 10^{-10}$	
	d	18	1 970 000 000	60 ⁰	91	$8,0 \times 10^{-10}$	
	e	2850	1 210 000 000	10 ⁰	42	$3,3 \times 10^{-10}$	
	g	18	1 440 000 000	62 ⁰	66	$15,8 \times 10^{-10}$	
	i	16	1 900 000 000	59 ⁰	67	$11,2 \times 10^{-10}$	
	j	173	1 600 000 000	37 ⁰	48	$10,0 \times 10^{-10}$	
	k	480	5 850 000 000	55 ⁰	44	$4,5 \times 10^{-10}$	
	m	2960	2 920 000 000	35 ⁰	44	$4,9 \times 10^{-10}$	
3	a	22,4	194 000 000	5 ⁰	54	$9,9 \times 10^{-10}$	$13,2 \times 10^{-10}$
	c	20,3	116 000 000	47 ⁰	45,5	$160,8 \times 10^{-10}$	
	e	24,1	2 410 000 000	42 ⁰	47	$8,9 \times 10^{-10}$	
	f	0,18	1 100 000 000	54 ⁰	53	$27,1 \times 10^{-10}$	
	g	23,5	1 500 000 000	26	47,5	$8,5 \times 10^{-10}$	
	h	38	1 700 000 000	37 ⁰	54	$10,4 \times 10^{-10}$	
	i	30,7	1 070 000 000	40 ⁰	48	$17,6 \times 10^{-10}$	
	k	23	2 280 000 000	39 ⁰	40	$10,2 \times 10^{-10}$	
4	b	0,23	1 460 000 000	36 ⁰	55	$13,1 \times 10^{-10}$	$19,6 \times 10^{-10}$
	e	3,75	114 000 000	31 ⁰	49	$124,2 \times 10^{-10}$	
	f	4,5	26 000 000	10 ⁰	49,5	$157,1 \times 10^{-10}$	
	g	23	1 000 000 000	52 ⁰	47	$25,3 \times 10^{-10}$	
	h	3,38	604 000 000	28 ⁰	56	$20,4 \times 10^{-10}$	
	i	15,6	1 000 000 000	42 ⁰	43	$22,8 \times 10^{-10}$	
	o	34,9	1 830 000 000	46 ⁰	42	$13,8 \times 10^{-10}$	
	g	12,6	1 750 000 000	77 ⁰	48	$22,3 \times 10^{-10}$	

Die vier Abteilungen der Tabelle repräsentieren vier verschiedene Stämme. Die durchschnittliche Stundenleistung per Zelle ist 14×10^{-10} oder $14/10\,000\,000\,000$ mg Milchsäure. Diese Zahl scheint lächerlich klein, in der Tat ist sie aber außerordentlich groß, wenn man sie mit dem Gewicht der Einzelzelle vergleicht. Über das Gewicht von Milchsäurebakterien liegen

¹⁾ Dieses Centralbl. Bd. 21. p. 7.

²⁾ Diese Zahlen bedeuten, daß 6, 9, 2 usw. Zellen in 100 ccm Milch übertragen wurden.

meines Wissens keine Angaben vor, dagegen ist das Gewicht des etwas größeren *Bacillus coli* von Mac Neal, Latzer und Kerr¹⁾ bestimmt worden. 1 g Trockensubstanz von *Bacillus coli* enthält 46 bis 57×10^{11} Bakterien, eine getrocknete Zelle wiegt also annähernd $\frac{1}{50} \times 10^{-11}$ g oder 2×10^{-10} mg. Der Wassergehalt der Bakterien wird im Durchschnitt zu etwa 10–20 Proz. angegeben, so daß sich das Lebendgewicht einer Zelle zu etwa 10 bis 20×10^{-10} mg berechnet. Demnach bildet also die Durchschnittszelle von *Bacterium lactis acid.* annähernd ihr eigenes Gewicht an Milchsäure in einer Stunde.

Wenn wir jeden Stamm für sich betrachten, so fällt die Unregelmäßigkeit der Resultate sofort auf. Drei Zahlen (3c, 4c und 4f) sind zehnmal so groß wie der Durchschnitt und sind daher als unwahrscheinlich ausgeschlossen. Ein Vergleich aller Daten zeigt, daß zweifellos sich irgendwo ein Fehler eingeschlichen hat. Vermutlich ist bei der Endzahl eine 0 vergessen worden. Die übrigen Daten zeigen die folgenden größten und kleinsten Werte:

Stamm 1	schwankt von	8,6	bis	30,0	Mittel	17,6
" 2	"	3,3	"	15,8	"	7,4
" 3	"	8,9	"	27,1	"	13,2
" 4	"	13,1	"	25,3	"	19,6

Die Differenz zwischen den größten und kleinsten Werten sind sehr erheblich. Bei Stamm 2 ist das Maximum fünfmal so groß wie das Minimum.

Tabelle IV.
Stundenleistung bei verschiedener Impfmenge.

	Beginn		Nach 12 Stunden			Nach 24 Stunden		
	Impfmenge per ccm	Acidität	Bakterienzahl	Acidität	Stundenleistung	Bakterienzahl	Acidität	Stundenleistung
1	4 320 000	17,5°	313 000 000 318 000 000	44°	40,5 × 10	—	—	—
2	432 000	16,5°	158 000 000 170 000 000	25°	33,3	648 000 000 660 000 000	81°	15,3 × 10 ⁻¹⁰
3	43 200	16,5°	49 000 000 69 000 000	19°	33,2	534 000 000 568 000 000	72,5°	32,2
4	4 320	16,5°	—	—	—	231 000 000 278 000 000	38°	50,3
5	432	16,5°	—	—	—	170 000 000 190 000 000	25°	33,1
6	43	16,5°	—	—	—	105 000 000	19,5°	22,6

Große Abweichungen wurden auch mit einer Rahmreifungskultur erhalten. (Tabelle IV.) Das Impfmaterial war nahezu eine Reinkultur, da ziemlich dicht besäte Gelatineplatten keine fremden Kolonien zeigten. Kolben mit je 100 ccm steriler Milch wurden verschieden stark geimpft, und nach 12 und 24 Stunden wurden die Bakterien gezählt und die Säurezunahmen bestimmt. Die Stundenleistung schwankt zwischen 15,3 und $50,3 \times 10^{-10}$ mg.

Geringere Abweichungen wurden mit dem Stamm II erzielt, der für die Mehrzahl der folgenden Versuche gebraucht wurde. Derselbe ist etwa zwei Jahre lang in diesem Laboratorium mindestens jeden zweiten Tag in Milch übergeimpft. Er ist ein schnell säuernder Stamm, der als Rahmreifungskultur

¹⁾ Journ. of Infect. Diseases. Vol. 6. 1909. p. 148.

in mehreren Molkereien benutzt wird. Die folgende Tabelle V gibt eine Zusammenstellung aller mit diesem Stamm in 24stündigen Milchkulturen erhaltenen Daten. Die Versuche erstrecken sich über mehr als ein Jahr, das einzig Identische an ihnen ist die sorgfältig gezüchtete Reinkultur und die Versuchstemperatur von 21–24° C. Die höchste und niedrigste Stundenleistung zeigt der letzte Versuch, 13,7 und $33,8 \times 10^{-10}$ mg. Die dann folgenden Grenzwerte sind 16,6 und 30,5. Die Verhältniszahlen sind 1 : 2,5 und 1 : 1,6, während sie in dem Versuch von Marshall und Farrand (nach Ausschaltung der drei unwahrscheinlichen Werte) 1 : 3,5, 1 : 4,8, 1 : 3,9 und 1 : 1,9 sind. Von Tabelle IV erhalten wir die Verhältniszahl 1 : 3,3. Der größte Fehler bei dem gepflegten Stamm II ist trotz der größeren Anzahl von Versuchen wesentlich geringer als bei den frisch isolierten Kulturen.

Tabelle V.
Stundenleistung des Stammes II.

Tabelle	Versuchszeit	Bakterienzahl per ccm		Acidität		Stundenleistung
		anfangs	24 Stunden	anfangs	24 Stunden	
XIV A	24	13 100	1 575 000 000	17,0°	79,25°	$25,0 \times 10^{-10}$
B	24	157 000	1 500 000 000	17,0°	78,25°	20,2 „
	24	1 570	1 230 000 000	17,0°	69,0°	30,5 „
XV.	24	600	1 150 000 000	19,5°	51,5°	21,8 „
XXa B	24	193 000	1 400 000 000	17,0°	75,75°	20,1 „
	24	1 930	1 345 000 000	17,0°	64,75°	25,2 „
C	24	183 000	1 500 000 000	17,0°	73,5°	18,6 „
	24	1 830	1 385 000 000	17,0°	70,5°	28,3 „
D	24	132 000	1 590 000 000	17,0°	72,0°	18,0 „
	24	1 320	1 065 000 000	17,0°	43,0°	18,4 „
E	24	134 000	1 685 000 000	13,0°	66,5°	16,6 „
	24	1 340	1 665 000 000	13,0°	52,75°	18,1 „
F	24	186 000	1 935 000 000	13,0°	66,0°	13,7 „
	24	1 860	1 040 000 000	13,0°	62,0°	33,8 „

Die Durchschnittswerte der Stundenleistung für die einzelnen Stämme zeigen so große Unterschiede, daß es sich hier zweifellos um Stammcharaktere handelt. Dies beweist Tabelle VI.

Tabelle VI.
Stundenleistung verschiedener Stämme.

	Stamm	Tabelle	Anzahl der Einzelbestimmungen	Stundenleistung
Marshall und Farrand	1	II	7	$17,6 \times 10^{-10}$ mg
	2	II	10	7,4
	3	II	7	13,2
	4	II	6	19,6
Rahn und Iwazumi	—	*	2	16,5
Rahn	α	IV	8	32,5
„	II	V	14	22,0
„	IV	XVI-XVII	3	13,3

Gesamt-Durchschnitt von 57 Einzelbestimmungen $17,8 \times 10^{-10}$ mg.

*) Nicht in dieser Arbeit veröffentlicht.

V. Einfluß des Alters.

Die Stundenleistung in verschiedenen Entwicklungsstadien. — Die Säurebildung durch Milchsäurebakterien verlangsamt sich nach einiger Zeit und hört schließlich, wegen Anhäufung von Stoffwechselprodukten vollständig auf. Der Rückgang der Säuerungsgeschwindigkeit ohne gleichzeitige Abnahme der Bakterienzahl bedeutet natürlich eine Abnahme der Stundenleistung. Wie die Wachstumsgeschwindigkeit, so wird auch die Gärleistung in alternden Kulturen sich allmählich dem Nullpunkt nähern. Dies zeigt deutlich Tabelle VII. Stamm II war in sterilisierte Milch geimpft, und alle drei Stunden wurden die Bakterienzahl und die Acidität bestimmt. Die beiden Versuchsreihen unterscheiden sich lediglich durch die verschiedene Impfmengung. In den ersten 6 bzw. 12 Stunden ist keine Säurebildung bemerkbar. Die erste Spur von Säure kann nicht genau bestimmt werden; daraus erklärt sich auch wohl die ungewöhnlich große Stundenleistung. Die Stundenleistung bleibt dann konstant bis eine Säuremenge von 50—60° erreicht ist¹⁾. Dann sinkt sie schnell zum Nullpunkt. Das Wachstum ist früher unterdrückt als die Gärung.

Dieser Versuch wurde eigens zu dem Zweck ausgeführt, die Haltlosigkeit eines Inkubationsstadiums mit Wachstum ohne Gärung darzulegen. Sobald Säurebildung überhaupt nachweisbar ist, zeigt sich die Stundenleistung per Zelle erheblich höher als einige Stunden später. Was vor dem Auftreten der ersten meßbaren Säuremengen vorgeht, läßt sich natürlich nicht sagen. Man kann aber leicht berechnen, daß, falls während der ganzen Inkubationsperiode Säure gebildet worden wäre, die Gesamtmenge innerhalb der analytischen Fehlergrenzen liegt.

In allen folgenden Versuchen, wo die Stundenleistung in verschiedenen Wachstumsstadien derselben Kultur bestimmt wurde, ist das Resultat das gleiche. Als Beispiele seien hier einige solche Daten angegeben.

Stundengärleistung in verschiedenen Wachstumsstadien.

Stamm	Tabelle	0—12 Stunden	12—24 Stunden	Mehr als 24 Stunden
II	XV	$17,9 \times 10^{-10}$	$7,6 \times 10^{-10}$	—
II	XV	—	21,8 „	$1,4 \times 10^{-10}$
IV	XVI	10,5 „	1,0 „	0,6 „
IV	XVI	19,9 „	1,6 „	0,8 „
IV	XVII	19,0 „	1,6 „	1,0 „

Weitere Daten sind in Tabelle XXI—XXIV zu finden.

Der Einfluß des Alters auf die Stundenleistung macht sich auch dann deutlich bemerkbar, wenn Parallelkulturen mit verschiedener Impfmengung verglichen werden. Die kleinere Impfmengung bewirkt eine größere Stundenleistung; das erscheint ganz natürlich, da die Kultur mit kleiner Impfmengung als die jüngere Kultur angesehen werden muß. Tabelle V zeigt dies recht deutlich.

Neutralisieren alter Milchkulturen. Es wird allgemein angenommen, daß in alten Kulturen Wachstum wie Vermehrung infolge der Säureanhäufung aufhört. Demnach müßte nach Neutralisierung der Säure

¹⁾ 1 Säuregrad = 1 ccm Normalsäure per Liter.

1° = $\frac{1}{1000}$ normal = 0,009 Proz. Milchsäure.

Tabelle VII.
Stundenleistung des Stammes II.

Zeit	A				B			
	Bakterienzahl	Acidität	Generations- dauer	Stundenleistung mg	Bakterienzahl	Acidität	Generations- dauer	Stundenleistung mg
anfangs	38 000	16,5°	—	—	38	16,5°	—	—
3 Std.	184 000	16,5°	74,8	—	160	16,5°	79,0	—
6 "	216 000	16,5°	58,1	—	205	16,5°	55,0	—
9 "	1 600 000	17,5°	50,8	46,2 × 10 ⁻¹⁰	1 720	16,5°	52,7	—
12 "	18 700 000	17,0°	70,9	10,0	21 700	16,5°	48,5	—
15 "	20 500 000	17,5°	92,2	13,8	24 800	16,5°	45,1	(148,0 × 10 ⁻¹⁰)
18 "	112 000 000	18,5°	130,1	11,7	302 000	17,0°	56,8	16,5
21 "	114 000 000	18,5°	663,0	6,6	4 700 000	17,5°	88,5	8,1
24 "	430 000 000	26,0°	1010,0	2,0	43 000 000	18,5°	92,2	13,5
27 "	1 000 000 000	45,5°	—	0,5	172 000 000	19,5°	210,3	10,6
30 "	1 270 000 000	46,0°	—	0,5	181 000 000	32,0°	619,8	5,2
33 "	1 490 000 000	63,5°	—	—	650 000 000	32,5°	—	0,9
36 "	1 610 000 000	66,0°	—	—	720 000 000	32,5°	—	0
	1 300 000 000	70,0°	—	—	1 230 000 000	53,5°	—	
	1 390 000 000	71,5°	—	—	1 240 000 000	54,5°	—	
	1 170 000 000	73,0°	—	—	1 470 000 000	70,0°	—	
	1 420 000 000	73,5°	—	—	1 560 000 000	71,5°	—	
	1 380 000 000	76,0°	—	—	1 280 000 000	74,5°	—	
	1 500 000 000	75,5°	—	—	1 600 000 000	75,5°	—	
	1 550 000 000	77,0°	—	—	1 670 000 000	75,0°	—	
	1 660 000 000	75,5°	—	—	1 830 000 000	76,0°	—	

Otto Rahn,

sowohl Wachstum wie Säurebildung von neuem eintreten. Dies wurde durch drei Versuche geprüft, deren Versuchsanordnung recht einfach war. Eine größere Menge einer Milchkultur von *Bacterium lactis acid*i wurde titriert und mittels Normallauge auf dem Säuregrad normaler Milch reduziert. In gewissen Zeitabständen wurde titriert und gezählt. Jeder der folgenden drei Versuche wurde in zwei genau gleichbehandelten Parallelkulturen ausgeführt. Da der erste Versuch mit Stamm II (Tabelle VIII)

Tabelle VIII.
Stundenleistung in neutralisierter Milchkultur.
Stamm II.

Zeit	A			B		
	Bakterienzahl	Acidität	Stundenleistung	Bakterienzahl	Acidität	Stundenleistung
anfangs	1 690 000 000	10,5°	—	1 160 000 000	12,0°	—
	1 860 000 000	11,0°		1 220 000 000	12,5°	
2 Std.	—	36,0°	—	—	33,5°	—
		36,5°			33,5°	
4 „	3 050 000 000	58,5°	6,43	2 830 000 000	54,0°	6,91
	3 330 000 000	58,5°		3 120 000 000	53,5°	
6 „	—	65,5°	—	—	63,5°	—
		66,5°			64,0°	
8 „	3 270 000 000	67,5°	0,66	3 250 000 000	68,0°	1,08
	3 270 000 000	68,5°		3 320 000 000	70,5°	
24 „	—	69,0°	—	—	69,0°	—
		70,0°			69,0°	

sowohl Gärung wie Vermehrung nach der Neutralisation zeigte, wurde im nächsten Versuch (Tabelle IX) die Neutralisation solange in Abständen von 24—48 Stunden wiederholt, bis die Säurebildung äußerst gering wurde. Derselbe Versuch wurde mit Stamm IV angestellt (Tabelle X).

Die Neutralisation schädigte die Lebensfähigkeit der Bakterien nicht merklich, wie die folgenden Zählungen kurz vor und kurz nach der Alkalizugabe zeigen:

Bakterienzahl per ccm in Milch.		
	A	B
Vor dem Neutralisieren	1 570 000 000	790 000 000
	1 730 000 000	950 000 000
Nach „ „	1 690 000 000	1 160 000 000
	1 860 000 000	1 220 000 000

In Tabelle VIII ist die Stundenleistung innerhalb der ersten vier Stunden nach dem Neutralisieren nur wenig niedriger als in dem vorigen Experiment. In dieser Zeit fand eine Vermehrung der Bakterien auf das doppelte statt. Die gebildete Säuremenge ist jedoch geringer als in der frischen Milch, welche 80° hatte. Gerinnung trat später ein als man nach der Säuremenge erwarten durfte.

Die Tabellen IX und X zeigen recht erhebliche Unterschiede. Stamm II vermehrt sich auch in diesem zweiten Versuch nach der Neutralisation und erreicht nach der dritten Neutralisation das Maximum. Die Anzahl der Zellen bleibt alsdann konstant, bis eine Gesamtsäuremenge von 340° = 3,06 Proz. Milchsäure gebildet ist. Dann sterben die Bakterien schnell ab, und es wird kaum noch Säure gebildet. Die Gesamtsäuremenge in den Parallelversuchen ist 366 bzw. 357° (3,29 bzw. 3,21 Proz. $C_3H_4O_3$).

Tabelle IX.
Stamm II in wiederholt neutralisierter Milch.

Acidität nach Neutrali- sation	Zeit Stun- den	End- Acidität	Säure- zunahme	Bakterien- zahl	Stunden- leistung mg	Acidität nach Neutrali- sation	Zeit Stun- den	End- Acidität	Säure- zunahme	Bakterien- zahl	Stunden- leistung mg
(frisch)	—	77,0° 78,0°	61,5°	500 000 000 780 000 000	?	(frisch)	—	77,0° 77,5°	61,0°	690 000 000 820 000 000	—
14,5 15,0	24	77,5° 65,0°	61,0°	2 130 000 000 2 340 000 000	$2,0 \times 10^{-10}$	14,0° 14,5	24	75,0° 76,0°	61,0°	1 940 000 000 2 090 000 000	$3,3 \times 10^{-10}$
20,0 20,0	24	72,0° 73,0°	52,5°	2 210 000 000 2 490 000 000	$0,9 \times 10^{-10}$	19,0 20,0	24	70,0° 70,0°	49,5°	2 280 000 000 2 350 000 000	$0,9 \times 10^{-10}$
19,0 20,0 fortgesetzt (64,5)	24 19	64,0° 65,0° 71,0° 72,0°	45,0° 7,0°	2 850 000 000 2 900 000 000 2 130 000 000 2 100 000 000	$0,6 \times 10^{-10}$ —	21,5 22,0 fortgesetzt (64,0)	24 19	63,5° 64,5° 70,0° 70,5°	42,0° 6,0°	2 910 000 000 3 040 000 000 2 060 000 000 2 190 000 000	$0,8 \times 10^{-10}$ —
20,0 20,5 fortgesetzt (63,5)	48 24	63,0° 64,0° 70,5° 72,0°	43,0° 8,0°	2 030 000 000 2 120 000 000 2 130 000 000 2 260 000 000	$0,4 \times 10^{-10}$ —	19,5 20,0 fortgesetzt (62,3)	48 24	62,0° 62,5° 70,0° 72,0°	42,5° 9,0°	2 100 000 000 2 250 000 000 2 060 000 000 2 130 000 000	$0,5 \times 10^{-10}$ —
24,0 25,0 fortgesetzt (46,5)	19 24	46,0° 47,0° 50,0° 52,0°	22,0° 4,5°	2 510 000 000 2 660 000 000 2 200 000 000 2 320 000 000	$0,5 \times 10^{-10}$ —	21,0 23,0 fortgesetzt (42,8)	19 24	42,5° 43,0° 52,0° 52,5°	21,0° 9,5°	1 940 000 000 2 180 000 000 2 480 000 000 2 600 000 000	$0,5 \times 10^{-10}$ —
7,5 8,0 fortgesetzt 48,3	24 24	48,0° 48,5° 50,0° 51,0°	40,5° 2,0°	— 2 100 000 000 2 410 000 000	$0,7 \times 10^{-10}$ —	5,0 6,0 fortgesetzt (25,0)	24 24	25,0° 25,5° 38,0° 39,0°	19,5° 13,5°	— 2 100 000 000 2 360 000 000	$0,3 \times 10^{-10}$ —
27,0 28,0	48	42,0° 43,0°	1,50°	1 580 000 000 1 730 000 000	$0,2 \times 10^{-10}$	26,0 27,0	48	42,0° 42,5°	16,0°	1 150 000 000 1 260 000 000	—
30,0 31,0	24	32,5 34,0°	3,0°	870 000 000 890 000 000	—	23,0 24,0	24	30,0° 31,0°	7,0°	730 000 000 910 000 000	$0,2 \times 10^{-10}$

Otto Rahn,

Tabelle X.
Stamm IV in wiederholt neutralisierter Milch.

Acidität nach Neutralisation	Zeit Stunden	End-Acidität	Säurezunahme	Bakterienzahl	Stundenleistung mg	Acidität nach Neutralisation	Zeit Stunden	End-Acidität	Säurezunahme	Bakterienzahl	Stundenleistung mg
frisch	—	89,0° 90,0°	74,0°	1 310 000 000 1 370 000 000	?	(frisch)	—	90,0° 89,0°	74,0°	2 010 000 000 2 120 000 000	—
5,0° 6,0° fortgesetzt (58,0)	24 5,5	57,0° 59,0° 62,0° 64,0°	52,0° 5,0°	1 170 000 000 1 220 000 000 —	$1,7 \times 10^{-10}$ —	12,0° 13,0° fortgesetzt (48,0)	24 5½	46,5° 49,5° 50,5° 51,5°	35,5° 3,0	1 570 000 000 1 610 000 000	$0,8 \times 10^{-10}$
5,0 5,5	42	52,5° 53,0°	47,5°	1 360 000 000 1 470 000 000	$0,8 \times 10^{-10}$	15,5 16,0	42	50,0° 50,5°	34,5°	1 410 000 000 1 570 000 000	$0,5 \times 10^{-10}$
3,0 3,0 fortgesetzt (10,3)	24 24	10,0° 10,5° 13,0° 13,5° 16,0° 17,0°	13,0° 3,0°	780 000 000 830 000 000 340 000 000	$0,5 \times 10^{-10}$ —	13,5 14,5 fortgesetzt (27,0) fortgesetzt 33,0	24 24 48	27,0° 27,0° 12,5° 33,5° 39,5° 40,0°	13,0° 6,0 7,0°	1 220 000 000 1 290 000 000 1 070 000 000 1 110 000 000 70 000 000 100 000 000	$0,4 \times 10^{-10}$ $0,2 \times 10^{-10}$ —
fortgesetzt (16,5)	24	20,0° 20,5°	4,0°	—	—	11,0 12,0	29	13,5° 15,0°	3,0°	30 000 000 50 000 000	—

Stamm IV ist unter normalen Bedingungen ein langsamer Säurebildner; bei 20—25° C. wird Milch erst in 36—48 Stunden zum Gerinnen gebracht, während Stamm II dies in 20 Stunden vollbringt. Stamm IV ist auch viel empfindlicher gegen seine eigenen Stoffwechselprodukte. Nach der ersten Neutralisation bildet er zwar wiederum Säure, vermehrt sich aber nicht mehr. Die Bakterienzahl bleibt nahezu konstant, bis etwa 160—180° Säure (1,4 bis 1,6 Proz.) gebildet sind. Dann folgt ein rasches Absterben der Bakterien, verbunden mit einer höchst geringen Säurebildung, so daß die Gesamtsäuremenge 176° und 202° (1,58—1,82 Proz. $C_3H_4O_3$) nicht überschreitet. Auf diesen Unterschied der Stämme II und IV komme ich noch im nächsten Abschnitte zurück.

Die Stundenleistung in den letzten beiden Versuchen ist recht gering im Vergleich zu Tabelle VIII. Dies liegt daran, daß die Daten nicht vergleichbar sind. Tabelle VIII gibt die Stundenleistung einer 4-stündigen Kultur, Tabelle IX und X die von 24-stündigen Kulturen an. Es ist bereits mehrfach darauf hingewiesen worden, daß nur gleichaltrige Kulturen verglichen werden dürfen. Wenn man die Stundenleistung in Tabelle VIII auf 24 Stunden berechnet, so erhält man $0,9 \times 10^{-10}$ mg. — Nach der zweiten Neutralisation verringert sich die Stundenleistung erheblich, und nimmt dann bei Stamm II langsam, bei Stamm IV schneller ab.

Die Versuchsbedingungen entsprechen im allgemeinen denjenigen, die Duclaux zur Bestimmung der „activité“ des „ferments lactiques“ anwandte (siehe Einleitung). Ein Vergleich seiner Daten mit den meinigen ist leider nicht möglich, da Duclaux auf das Zeitelement keinen Wert legte. Seine Versuche blieben mehrere Wochen lang stehen, ehe die endgültige Säurebestimmung gemacht wurde.

Degenerierung alter Kulturen. Bekanntlich verlieren Reinkulturen von Milchsäurebakterien erheblich an Lebenskraft, wenn sie nicht häufig umgeimpft werden. Ältere Rahmreifungskulturen säuern frischen Rahm höchst langsam. Es scheint wünschenswert, zu erfahren, ob dies die Folge einer Schwächung aller Lebensfunktionen ist, oder ob vielleicht eine Funktion stärker geschädigt wird als die andere. Die vorigen Versuche zeigten, daß alte Zellen weniger Säure produzierten als junge. Die nächsten Versuche zeigten, bis zu welchem Grade sich die Bakterien von der schädlichen Wirkung ihrer eigenen Stoffwechselprodukte wieder erholen können.

Der erste Versuch dieser Art wurde mit dem Stamm *a* angestellt, der schon in Versuch IV benutzt worden war und dort eine mittlere Gärleistung von $32,5 \times 10^{-10}$ mg zeigte. Zwölf Erlenneyer kolben mit je 100 ccm steriler Milch wurden A, A₁, B, B₁, C, C₁ usw. benannt. A war die Stammkultur, von welcher in gewissen Zeitabschnitten die anderen beimpft wurden. Die Parallelen unterschieden sich nur durch die Impfmenge. Die Kultur A gerann in 24 Stunden. Hiermit wurden B und B₁ geimpft, B mit 0,01 ccm, B₁ mit 0,0001 ccm. Nach zwei Tagen wurden C und C₁, nach 4 Tagen D und D₁ in derselben Weise geimpft. Die letzteren säuerten nur langsam, daher wurde nach 7 Tagen die Impfmenge größer gewählt; E erhielt 1 ccm und E₁ 0,01 ccm. Nach 13 Tagen wurde F mit 1 ccm von A geimpft.

In allen diesen Kulturen wurde Bakterienzahl und Acidität bei der Impfung und nach genau 24 Stunden bestimmt. Nur die letzte Kultur F säuerte so langsam, daß sie erst nach 36,5 und nach 60 Stunden analysiert wurde. Sämtliche Resultate sind in den Tabellen XI und XII zusammengestellt. Tabelle XI zeigt den Einfluß des Alterns auf die Bakterienzahl und

den Säuregehalt der Kultur A, Tabelle XII gibt die Entwicklung der von A übergeimpften Bakterien in steriler Milch.

Tabelle XI.
Acidität und Bakterienzahl einer alternden Milchkultur von Stamm a.

Alter	Bakterienzahl per ccm	Acidität
1 Tag	1 120 000 000 1 140 000 000 1 150 000 000	69,5°
2 Tage	870 000 000 882 000 000 889 000 000 980 000 000	100,0°
4 „	550 000 000 594 000 000	108,0°
7 „	127 000 000 131 000 000	114,0°
10 „	1 980 000 2 300 000 2 490 000 2 700 000	110,0°
13 „	3 500 000 3 700 000	?

Die Abnahme der Vermehrungsgeschwindigkeit sowie der Stundenleistung ist unverkennbar. Die Gärleistung per Zelle und Stunde ist auf etwa ein Viertel des ursprünglichen Wertes zurückgegangen. Die Generationsdauer ist anfangs nicht so sehr beeinflusst, in der 13 Tage alten Kultur brauchen jedoch die Bakterien 8—10 Stunden für die durchschnittliche Zellteilung nach der Überimpfung in sterile Milch. Da sowohl die Vermehrungsfähigkeit wie die Gärleistung der einzelnen Zelle auf etwa ein Viertel ihres ursprünglichen Wertes reduziert werden, so ist demnach die gesamte Leistungsfähigkeit der Kultur nur ein Sechzehntel der ursprünglichen.

Ein Vergleich der Gelatineplatten zeigte sehr deutlich, daß nicht alle Zellen gleichmäßig geschwächt wurden. Während die jungen Kulturen in kurzer Zeit Kolonien gleicher Größe erzeugen, wachsen die älteren Kulturen nur sehr langsam und mit ungleicher Geschwindigkeit. Zählungen derselben Platte an verschiedenen Tagen ergeben für einige Zeit beständig zunehmende Werte, während bei frischen Kulturen die Kolonien gleichzeitig erscheinen. Einige Kolonien der alten Kulturen wachsen zur normalen Größe aus, während andere das Wachstum einstellen, wenn sie kaum sichtbar sind. Merkwürdig ist dabei, daß diese Schwächung durch viele Generationen hindurch erblich ist. Z. B. waren die Kolonien der 24-stündigen Milchkultur E sehr unregelmäßig. 12 900 alte Bakterien von A hatten sich in dem neuen Medium binnen 24 Stunden auf 80 000 000 Zellen vermehrt. Dazu sind 11 bis 12 Generationswechsel nötig gewesen. Dann wurden diese Bakterien zur Zählung in Milchzuckergelatine übertragen, und wuchsen hier, unter vorzüglichen Lebensbedingungen, bis sie deutlich sichtbar waren. Hierzu sind wiederum etwa 20 Generationen notwendig. In etwa 30 Generationen ist also die Schwächung infolge langen Aufenthaltes in der alten Milchkultur noch nicht überwunden worden.

Tabelle XII.
Degeneration des Stammes α in Milchkultur.

Alter des Impf- materials		Bakterienzahl per ccm		Acidität		Stunden- leistung	Gene- rations- dauer
		anfangs	24 Stunden	anfangs	24 Std.		
B	1 Tag	114 000	820 000 000 830 000 000 856 000 000	16,5°	81° 82°	38,4 × 10 ⁻¹⁰	112
B ₁		1 140	655 000 000 677 000 000 590 000 000 760 000 000	16,5°	61,5° 63,0°	40,7 „	114
C	2 Tage	90 000	784 000 000 840 000 000 970 000 000	16,5°	80 °	36,5 „	109
C ₁		900	290 000 000 334 000 000 374 000 000	16,5°	33°	34,5 „	78
D	4 Tage	57 200	174 000 000 215 000 000	16,5°	28° 28°	26,1 „	123
D ₁		572	24 000 000 46 000 000	16,5°	16° 18°	(?)	—
E	7 Tage	1 290 000	812 000 000 812 000 000	15°	56°	17,9 „	155
E ₁		12 900	79 000 000 82 000 000	14°	17°	17,6 „	114
F	13 Tage	3 600 000	57 000 000 80 000 000	15°	22° 1) 23°	12,1 „	515
		fortgesetzt (68 500 000)	360 000 000 ² 390 000 000	— (22,5°)	55° 2)	8,6 „	679

Darauf wurde versucht, ob es überhaupt möglich sei, eine derartig degenerierte Kultur durch regelmäßige Übertragung in Milch wieder homogen zu machen. Mit der letzten Kultur F wurde der Kolben C geimpft, mit diesem nach 24 Stunden der Kolben H, dann I, dann K und schließlich L. Die Resultate sind in Tabelle XIII zusammengestellt. Bei der Kultur H kann das abweichende Ergebnis durch keine bewußte Unregelmäßigkeit erklärt werden. Die Kultur L, die mit 0,01 ccm der Kultur K geimpft war, gerann in 20 Stunden und hatte nach 24 Stunden die beträchtliche Acidität von 83°. Der Versuch wurde daher abgebrochen, da es schien, als ob der gewünschte Punkt erreicht sei. Die spätere Berechnung zeigte jedoch, daß dies nicht der Fall war. Die Stundenleistung von L ist nur halb so groß wie die von A, wogegen die Vermehrungsgeschwindigkeit den alten Wert erreicht, ja sogar ein wenig übertroffen hat. Die Generationsdauer ist nämlich

in H 94 Minuten
68 „
in K 110 „
81 „
in L 106 „

¹⁾ Nach 36,15 Stunden.

²⁾ Nach 60 Stunden.

Tabelle XIII.
Regenerierung einer alten Kultur.

	Anfangs		Nach 24 Stunden			Nach 36 Stunden		
	Bakterien-	Acidi-	Bakterien-	Acidi-	Stunden-	Bakterien-	Acidi-	Stunden-
	terien-	tät	zahl	tät	leistung	zahl	tät	leistung
H	6 800	14,0°	269 000 000 295 000 000	22,0° 22,0°	$20,6 \times 10^{-10}$	verunglückt	33,0° 35,0°	?
	68	14,0°	144 000 000 160 000 000	17,0° 17,0°	$15,6 \times 10^{-10}$	384 000 000 426 000 000	27,0° 27,0°	$4,2 \times 10^{-10}$
I	40 500	18,5°	—	—	—	1 140 000 000 1 220 000 000	78,0° 79,0°	18,6 „
K ¹	118 000	18,5°	1 380 000 000 1 610 000 000	52,5° 54,5°	$8,2 \times 10^{-10}$			
	1 180	18,5°	399 000 000 419 000 000	24,0° 25,0°	$9,7 \times 10^{-10}$			
L	150 00	18,5°	1 650 000 000 2 070 000 000	82,0° 84,0°	$17,6 \times 10^{-10}$			

Die vergleichbaren Daten für H, K und L, die mit annähernd gleichen Impfmengen erhalten wurden, sind 94, 110 und 106, während die entsprechenden Zahlen bei der ursprünglichen Kultur 112, 114, 109 und 123 sind. Aus dem Stamm *a* hat sich also ein etwas schneller wachsender, aber erheblich langsamer gärender Stamm entwickelt.

Tabelle XIV.
Degeneration des Stammes II in alter Milchkultur.

Alter des Impf- materials		Bakterienzahl per ccm		Acidität		Stunden- leistung mg
		anfangs	24 Stunden	anfangs	24 Stunden	
A		12 400 13 800	1 350 000 000 1 800 000 000	17,0°	79,0° 79,5°	$25,0 \times 10^{-10}$
B	1 Tag	157 000	1 420 000 000 1 580 000 000	17,0°	77,0° 79,5°	20,2
		1 575	1 180 000 000 1 280 000 000	17,0°	69,0° 69,0°	30,5
C	5 Tage	2 800 000	1 730 000 000 1 850 000 000	17,0°	verloren	—
		28 000	1 100 000 000 1 150 000 000	17,0°	verloren	—
D	9 Tage	weniger als 1000	1 350 000 000 1 580 000 000	17,0°	78,0° ²⁾ 79,0°	16,3
		weniger als 10	1 480 000 000 1 510 000 000	17,0°	70,0° 70,5°	18,2
E	12 Tage	zwischen 1—100	1 600 000 000 1 630 000 000	17,0°	72,0° ³⁾ 72,5°	13,2
		0	—	17,0°	17,0° 17,0°	

¹⁾ 25 Stunden anstatt 24.

²⁾ 48 Stunden.

³⁾ 73 Stunden.

Ein zweiter Versuch über die Degeneration alter Milchkulturen wurde mit Stamm II angestellt. Die Resultate zeigt die Tabelle XIV. Eine Abnahme der Stundenleistung ist recht deutlich, wenn sie auch wesentlich geringer ist als im vorigen Experiment. Die Bakterien der Stammkultur A starben unerwartet schnell ab, daher waren die Verdünnungen zu den Zählplatten zu groß gewählt worden und die Impfmengen wurden nur höchst ungenau bestimmt.

Die Regenerierung der alten Kultur wurde nicht versucht.

Einfluß der Ernährung.

Man wird *a priori* annehmen können, daß die Stundenleistung der Zelle durch die Ernährung beeinflusst wird. Bekanntlich bildet *Bacterium lactis acidi* in Zuckerbouillon weniger Säure als in Milch. Einige Rassen der Milchsäurebakterien produzieren mehr Säure in Milch bei Gegenwart von Pepton. Ob dies einer schnelleren Vermehrung oder einer besseren Gärleistung zuzuschreiben ist, wurde in den folgenden Versuchen bestimmt.

Einfluß des Peptons. Die Wirkung des Peptonzusatzes zu Milch auf Milchsäurebakterien wurde an den Stämmen II und IV studiert. Die Versuchsanordnung war sehr einfach. 2 Erlenmeyerkolben mit 100 ccm Milch und 2 mit 100 ccm Milch + 1 g Pepton Witte wurden fraktioniert sterilisiert und mit einer 24-stündigen Kultur von Stamm II geimpft; die Impfmenge der einen Serie war 100-mal so groß wie die der andern. Nach 12, 24 und 37 Stunden wurde titriert und gezählt. Tabelle XV zeigt, daß Stamm II durch Pepton nicht beeinflusst wird. Pepton an sich

Tabelle XV.
Einfluß von Pepton auf Stamm II.

Stunden	Milch				Milch + 1% Pepton			
	Bakterien- zahl	Acidi- tät	Gene- ra- tions- dauer	Stunden- leistung mg	Bakterien- zahl	Acidi- tät	Gene- ra- tions- dauer	Stunden- leistung mg
0	60 000	19,5°	—	—	60 000	23,0°	—	—
12	234 000 000	24,0°	60	$17,9 \times 10^{-10}$	172 000 000	25,5°	63	$13,3 \times 10^{-10}$
	241 000 000	24,5°			181 000 000	26,0°		
24	1 190 000 000	67,5°	295	7,6 „	1 220 000 000	77,5°	257	10,3 „
	1 390 000 000	68,5°			1 240 000 000	77,5°		
37	—	76,0°	—	—	—	84,5°	—	—
		78,5°				85,5°		
0	600	19,5°	—	—	600	23,0°	—	—
12	—	19,5°	—	—	—	22,0°	—	—
						23,0°		
24	1 050 000 000	51,0°	69	$21,8 \times 10^{-10}$	1 030 000 000	53,5°	69	$21,7 \times 10^{-10}$
	1 250 000 000	52,0°			1 190 000 000	54,5°		
37	1 210 000 000	75,0°	—	1,4 „	1 200 000 000	82,5°	—	1,8 „
	1 330 000 000	75,5°			1 410 000 000	83,5°		

erhöht die Acidität der Milch um etwa 3—4°. Die Versuche mit und ohne Pepton stimmen so gut überein, wie man es von Parallelversuchen erwarten kann.

Stamm IV ist dagegen durch Peptonzusatz vollkommen geändert. Aus der langsam wachsenden Kultur, die mindestens 36 Stunden zum Koagu-

lieren der Milch braucht, ist nach Peptonzusatz ein *Bacterium* geworden, das bedeutend schneller und bedeutend mehr Säure produziert als Stamm II. Trotzdem zeigt die Berechnung, daß die Stundenleistung nicht wesentlich geändert ist. Die Anzahl der Bakterien ist nahezu das Fünffache, daraus erklärt sich die schnellere Säurebildung. Dementsprechend ist die Wachstumsgeschwindigkeit vergrößert, d. h. die Generationsdauer verkürzt. Tabelle XVII gibt genau das gleiche Bild wie Tabelle XVI. Die schnelle Säurebildung ist die Folge einer beschleunigten Vermehrung, während die per Zelle gebildete Säuremenge konstant ist. Der Laktacidasegehalt der Zelle ist also von der Anwesenheit von Pepton unabhängig.

Tabelle XVI.
Einfluß von Pepton auf Stamm IV.

Stunden	Milch				Milch + 1% Pepton			
	Bakterien- zahl	Acidi- tät	Gene- ra- tions- dauer	Stunden- leistung mg	Bakterien- zahl	Acidi- tät	Gene- ra- tions- dauer	Stunden- leistung mg
0	124 000	16,0° 16,0°	—	—	124 000	19,0° 19,0°	—	—
24	520 000 000 590 000 000 640 000 000 680 000 000	29,5° 30,0°	118	$10,5 \times 10^{-10}$	2 930 000 000 2 870 000 000	102,0° 103,0°	99	$15,7 \times 10^{-10}$
48	559 000 000 577 000 000 590 000 000 660 000 000	45,0° 47,0°		1,0 „	2 240 000 000 2 570 000 000	103,0° 104,0°		—
72	710 000 000 790 000 000	56,0° 56,0°		0,6 „		116,0° 116,0°		0,2 „
0	1 240	16,0° 16,0°	—	—	1 240	19,0° 19,0°	—	—
24	265 000 000 270 000 000 280 000 000 290 000 000	24,0° 24,5°	82	$19,9 \times 10^{-10}$	1 820 000 000 1 940 000 000	61,5° 62,0°	70	$17,5 \times 10^{-10}$
48	360 000 000 435 000 000 465 000 000 470 000 000	38,5° 39,0°		1,6 „	2 510 000 000 3 240 000 000	107,5° 109,5°		0,8 „
72	550 000 000 610 000 000	49,5° 50,0°		0,8 „		124,0° 124,5°		0,2 „

Ein Punkt bleibt aber noch unerklärt, nämlich die große Gesamtsäuremenge. Während Stamm IV in normaler Milch nicht mehr als 60—70° Säure bildet, ist nach Zusatz von Pepton die Säuremenge verdoppelt. Es wird gewöhnlich angenommen, daß in alten Kulturen die Gärung aufhört, weil die Anhäufung der Stoffwechselprodukte die Wirkung des Gärungs-enzym aufhebt. Man kann nun natürlich annehmen, daß durch Peptonfütterung ein besonders widerstandsfähiger Stamm erzielt wird. Es ist aber noch eine andere Erklärung möglich, die auf dem Massenwirkungsgesetz beruht. Wir wissen, daß Enzymreaktionen — in einigen Fällen wenigstens — bis zu einem Gleichgewichtszustand verlaufen. Wird solch ein Zustand durch Hinzufügen von Enzym gestört, so verläuft der Prozeß weiter bis zu einem neuen Gleichgewicht. Der Endzustand hängt also von der an-

Tabelle XVII.
Einfluß von Pepton auf Stamm IV.

Stunden	Milch				Milch + 1% Pepton			
	Bakterien- zahl	Acidi- tät	Gene- ra- tions- dauer	Stunden- leistung mg	Bakterien- zahl	Acidi- tät	Gene- ra- tions- dauer	Stunden- leistung mg
0	1 200	19° 19°			1 200	25° 25,5°		
24	422 000 000 430 000 000	30,5° 31°	78	19,0 × 10— ¹⁰	2 410 000 000 2 760 000 000	94,0 96,5°	68	21,4 × 10— ¹⁰
48	394 000 000 380 000 000	48° 48°		1,6 „	2 510 000 000 2 560 000 000	105° 112°		0,2 „
72	425 000 000 433 000 000	59° 59,5°		1,0 „	1 630 000 000 1 750 000 000	126° 129°		0,3 „

wesenden Enzymmenge ab. Bei dem Stamm II war durch Pepton weder die Zellzahl noch die Laktacidasemenge per Zelle wesentlich verändert; dementsprechend ist die Säuremenge die gleiche. Bei Stamm IV wurde durch Pepton die Zellzahl verfünffacht. Der Laktacidasegehalt der Zelle war der gleiche, also haben wir durch den Peptonzusatz die fünffache Menge von Enzym erhalten. Dadurch kann natürlich das Gleichgewicht sehr geändert werden. Es darf jedoch nicht vergessen werden, daß Gleichgewichtszustände noch nicht für alle Enzyme bewiesen sind, und es scheint nach den bisherigen Erfahrungen doch recht fraglich, ob durch Hinzufügung großer Mengen von gärfähigen Zellen eine vollständigere Vergärung erzielt werden kann.

Das üppige Wachstum von Stamm IV nach Peptonzugabe beweist deutlich, daß die langsame Entwicklung in normaler Milch nicht durch besonders große Säureempfindlichkeit, sondern durch einen Mangel an Nährstoffen verursacht wird. Offenbar sind die assimilierbaren Stickstoffverbindungen in Milch im Minimum vorhanden, und ihre Menge reguliert das Wachstum von Stamm IV. Dies zeigten auch die Neutralisationsversuche (Tabelle X). Nach Abstumpfung der Säure fand zwar wieder Gärung, aber keine Vermehrung statt, da alle brauchbaren Stickstoffverbindungen bereits assimiliert waren. Stamm II ist dagegen von Pepton unabhängig, da er imstande ist, seinen Stickstoffbedarf anderswo zu decken. Sein Wachstum wird durch Säureanhäufung sistiert, und sobald die Säure abgestumpft wurde, fand wiederum Wachstum statt (Tabelle VIII und IX).

Die Beobachtung von Marshall¹⁾ und Marshall und Farand²⁾, daß gewisse Bakterien die Säurebildung von Milchsäurebakterien beschleunigen, kann bis zu einem gewissen Grade durch die Bildung leicht assimilierbarer Stickstoffverbindungen in Milch erklärt werden, die den stickstoffhungrigen Milchsäurebakterien eine bessere Entwicklung erlauben. Marshall selbst hat dies schon als eine der möglichen Erklärungen angesehen. Diese Annahme wird dadurch sehr wahrscheinlich gemacht, daß der auf Pepton nicht reagierende Stamm II auch in Mischkulturen keine Unterschiede zeigte, während der empfindliche Stamm IV deutlich reagierte. Tabelle XVIII zeigt einige dieser Resultate.

¹⁾ Dieses Centralbl. Bd. 11. p. 739.

²⁾ Dieses Centralbl. Bd. 21. p. 7.

Tabelle XVIII.
Säurebildung in Mischkultur.

Kulturen	24 Stunden	48 Stunden	96 Stunden
Bact. lactis acid. IV allein	51°	80°	95°
" " " IV + B. mycoides	66°	90°	93°
" " " IV + B. prodigiosus	58°	99°	113°
" " " IV + B. subtilis	58°	81°	92°
B. mycoides, allein	26°	27°	31°
B. prodigiosus, allein	31°	35°	36°
B. subtilis, allein	22°	22°	21°

Einfluß zuckerfreier Medien. Es ist gelegentlich beobachtet worden, daß Milchsäurebakterien in zuckerarmen oder zuckerfreien Nährmedien allmählich die Fähigkeit der Säurebildung verlieren. Dies wurde zuerst mit dem Stamm α , dann mit Stamm II versucht.

Stamm α wurde in gewöhnliche Fleischbouillon geimpft und täglich frisch von Bouillon in Bouillon übertragen. Von der ersten, zweiten, sechsten und zehnten Bouillonkultur wurden Abimpfungen in sterile Milch gemacht, die in der üblichen Weise gezählt und titriert wurden. Tabelle XIX gibt

Tabelle XIX.
Degeneration des Stammes α in Bouillon.

Nr. der Bouillonkultur	Bakterienzahl per ccm		Acidität		Stundenleistung mg	Generationsdauer Minuten
	anfangs	24 Stunden	anfangs	24 Stunden		
A 1	3 750	1 430 000 000	18°	69°	24,1 $\times 10^{-10}$	77
		1 520 000 000		69°		
	37	509 000 000	18°	20°	3,1 „	61
		513 000 000		19,5°		
B 2	3 200	1 690 000 000	18°	77°	28,2 „	64
		1 950 000 000		81°		
	32	860 000 000	18°	34°	16,8 „	58
		960 000 000		35°		
D 6	181 000	1 870 000 000	16,5°	81°	16,9 „	108
		1 990 000 000		82°		
	1 800	1 820 000 000	16,5°	54°	15,4 „	72
		1 820 000 000		54°		
E 10	235 000	2 510 000 000	16,5°	82°	12,8 „	107
		2 730 000 000		84°		
	2 350	600 000 000	16,5°	29°	13,0 „	80
		700 000 000				

die Resultate. Bemerkenswert ist vor allen Dingen die anfängliche große Abweichung der Resultate in den Parallelversuchen, die aber bei häufiger Überimpfung geringer wird. Vermutlich hat die Übertragung in Bouillon der Kultur anfangs den homogenen Charakter vollkommen zerstört, bis sich allmählich ein neuer, homogener Typus herausgebildet hat. Eine geringe Abnahme der Stundenleistung scheint vorhanden zu sein, während die Vermehrung nicht deutlich beeinflusst ist.

In einem Punkte weicht das Resultat von allen bisherigen Versuchen ab; in den Parallelversuchen mit verschiedener Impfmenge ergibt die klei-

nere Impfmenge die kleinere Stundenleistung, während in normalen Kulturen das Gegenteil der Fall ist (s. Abschnitt V). Dasselbe Resultat gab ein Versuch mit Stamm II.

Bouillon wurde durch *Bacillus coli* von den letzten Spuren des Muskelzuckers befreit, dann wurde Stamm II täglich von Röhrchen zu Röhrchen übertragen. Das Wachstum war so schwach, daß es nur bei besonderer Beleuchtung sichtbar war. Anfangs wurde täglich 1 ccm übertragen, später ergab sich aber, daß eine Platinöse genügte, um vollständige Entwicklung in 24 Stunden zu garantieren. Von den 24-stündigen Kulturen wurden dann Abimpfungen in Milch gemacht wie beim vorigen Versuche.

Nachdem die Bakterien 31-mal umgeimpft waren, ohne eine Veränderung der Stundenleistung zu zeigen, wurde der Versuch abgebrochen. Zugleich mit den Bouillonkulturen wurden Milchkulturen täglich übertragen und als Kontrolle benutzt. Der einzige Unterschied zwischen den Kontrollen und den Bouillonkulturen ist der Einfluß der Impfmenge, der schon beim vorigen Versuch so deutlich war. Bei den Bouillonkulturen ergibt in jedem einzelnen Falle die kleinere Impfmenge die kleinere Stundenleistung,

Tabelle XX.
Degeneration des Stammes II in zuckerfreier Bouillon.

Nr. der Bouillonkultur		Bakterienzahl per ccm		Acidität		Stundenleistung mg
		anfangs	24 Stunden	anfangs	24 Stunden	
A	1	2 300	1 440 000 000	17,0°	65,0°	23,7 × 10 ⁻¹⁰
			1 560 000 000		67,0°	
		23	870 000 000	17,0°	32,5°	16,8 „
			880 000 000		32,5°	
B	3	550	1 520 000 000	17,0°	58,0°	21,3 „
			1 620 000 000		59,0°	
		6	321 000 000	17,0°	21,0	11,1 „
			340 000 000		20,5°	
C	6	920	1 370 000 000	17,0°	64,0°	25,4 „
			1 460 000 000		63,0°	
		9	280 000 000	17,0°	23,5°	21,2 „
			317 000 000		24,0°	
D	10	950	1 150 000 000	17,0°	62,0°	26,1 „
			1 480 000 000	17,0°	62,0°	
		10	280 000 000	17,0°	25,0	25,5 „
			304 000 000	17,0°	25,0°	
E ¹⁾	16	1 090	1 620 000 000		50,0°	15,0 „
			1 680 000 000	13,0°	51,0°	
		11	249 000 000	13,0°	16,0°	9,4 „
			268 00 0000		16,5°	
F	22	905	1 650 000 000	13,0°	61,0°	22,6 „
			1 790 000 000		62,0°	
		9	450 000 000	13,0°	20,5°	15,4 „
			520 000 000		21,0°	
G	31	925	1 330 000 000	18,5°	56,0°	21,0 „
			1 450 000 000		56,5°	
		9	300 000 000	18,5°	25,5°	20,5 „
			340 000 000		25,5°	

¹⁾ 28 Stunden alt.

Tabelle XXa.
Milchkontrollen zu Tabelle XX.

Nr. der Milch- kultur		Bakterienzahl per ccm		Acidität		Stunden- leistung mg
		anfangs	Stunden 24	anfangs	24 Stunden	
B	3	193 000	1 400 000 000	17,0°	77,5°	20,1 × 10 ⁻¹⁰
			1 410 000 000		76,0°	•
		1 930	1 190 000 000	17,0°	64,5°	25,2 „
			1 580 000 000		65,0°	
C	7	183 000	1 350 000 000	17,0°	72,5°	18,6 „
			1 640 000 000		74,5°	
		1 830	1 340 000 000	17,0°	70,0°	28,3 „
			1 430 000 000		71,0°	
D	11	132 000	1 520 000 000	17,0°	71,5°	18,0 „
			1 660 000 000		72,5°	
		1 320	1 040 000 000	17,0°	43,0°	18,4 „
			1 090 000 000		43,0°	
E	18	134 000	1 590 000 000	13,0°	66,0°	16,6 „
			1 780 000 000		67,0°	
		1 340	1 570 000 000	13,0°	52,5°	18,1 „
			1 760 000 000		53,0°	
F	23	186 000	1 890 000 000	13,0°	66,0°	13,7 „
			1 980 000 000		66,0°	
		1 860	1 000 000 000	13,0°	61,5°	33,8 „
			1 080 000 000		62,5°	

bei den Milchkulturen ist ausnahmslos das Gegenteil der Fall. Eine befriedigende Erklärung hierfür kann nicht gegeben werden. Die Annahme, daß die Bouillonkulturen vorübergehend degenerieren und sich in Milch schnell wieder erholen, ist recht unbefriedigend. Auch ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß die Übertragung von $\frac{1}{100}$ ccm Bouillon in Milch die Ernährung der Bakterien wesentlich beeinflußt, zumal Stamm II auf Pepton nicht reagiert. Auch Weigmanns¹⁾ Abhandlung über die Degeneration von Milchsäurebakterien geben keinen weiteren Anhaltspunkt.

Degeneration alter Bouillonkulturen. Da die beiden Stämme α und II keinen erheblichen Verlust ihrer Gärkraft bei täglichem Überimpfen in zuckerfreier Lösung zeigen, so wurde versucht, ob vielleicht ein längeres Verweilen in solchen Lösungen eine stärkere Wirkung haben würde. Hierzu wurden die Stämme II und IV benutzt.

Die Versuchsanordnung war von der obigen verschieden. Die Kulturen wurden zuerst einige Male in entzuckerter Bouillon übergeimpft und dann in Kölbchen mit je 100 ccm Bouillon übertragen. Drei Kölbchen wurden zu gleicher Zeit geimpft, und nach 2, 4 und 6 Tagen wurden die Bakterien gezählt, die Säure bestimmt und dann 1 g sterilisierter Milchzucker in die Kultur getan. Nach 16, 24 und 48 Stunden wurde dann die Säure und die Bakterienzahl wiederum bestimmt. Hierdurch wurde der Wechsel von Bouillon in Milch und etwaige dadurch entstehende Veränderungen der physiologischen Beschaffenheit der Zelle vermieden.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen XXI und XXII zu finden. Die Kulturen sind in zwei Tagen soweit gewachsen, wie dies ohne Zucker möglich ist. Die Maximalzahlen sind sehr klein, etwa 8 000 000 per ccm bei

¹⁾ Lafars Handbuch. Bd. 11. p. 101.

Stamm II und 20 000 000 bei Stamm IV. Sobald aber Milchzucker hinzugefügt wurde, findet wiederum eine lebhafte Vermehrung statt. Es ist wohl kaum zweifelhaft, daß der Zucker hier als Energiequelle diente, da Baumaterial für die Zellen doch in reichlicher Menge vorhanden war. Die Stundenleistung per Zelle in den ersten 16 Stunden nach der Zuckerzugabe entspricht derjenigen in Milchkulturen. Ob die Zellen in der Abwesenheit von Zucker Laktacidase gebildet hatten oder ob dies erst später, nach der Zuckerzugabe, erfolgte, kann durch diese Versuche nicht entschieden werden. Eine Kultur des Stammes IV erhielt erst nach 21 Tagen Milchzucker. Die Bakterien waren in dieser Zeit größtenteils abgestorben, doch nach Zusatz von Zucker vermehrten sie sich anfangs etwas langsam, später aber reichlich. Die Stundenleistung, die Bakterienzahl und die Gesamtsäuremenge entsprachen ganz den jüngeren Kulturen. Das Absterben der Zellen in der zuckerfreien Lösung darf wohl als Hungererscheinung aufgefaßt werden, denn von einer Anhäufung schädlicher Produkte kann kaum die Rede sein, weil die Bakterien sich nach Zuckerzugabe vermehrten. Daß in den ersten 16 Stunden keine Säurezunahme gefunden wurde, ist nicht verwunderlich, denn die in dieser Zeit gebildete Säuremenge berechnet sich auf 0,2°, d. h. sie ist innerhalb der Fehlergrenzen. Der lange Aufenthalt in zuckerfreien Nährlösungen schädigt die hier untersuchten Milchsäurebakterien weniger als der Aufenthalt in Milch.

Tabelle XXI.

Alte Bouillonkulturen des Stammes II nach Milchzuckergabe.

Alter der Bouillonkultur	Zeit nach Zuckergabe	Bakterienzahl per ccm	Acidität	Stundenleistung
2 Tage	0 Stunden	7 500 000 7 800 000	22,5° 22,5°	—
	16 „	346 000 000 369 000 000	45,5° 46,0°	20,7 × 10 ⁻¹⁰ mg
	24 „	350 000 000 350 000 000	50,5° 52,0°	1,8 „
	48 „	—	50,0° 56,0°	0,6 „
4 Tage	0 Stunden	5 000 000 5 600 000	21,5° 21,5°	—
	16 „	247 000 000 277 000 000	42,0° 42,5°	25,5 „
	24 „	279 000 000 280 000 000	49,0° 50,0°	3,2 „
	48 „	—	55,0° 58,0°	1,0 „
6 Tage	0 Stunden	5 500 000 6 700 000	22,0° 22,0°	—
	16 „	292 000 000 311 000 000	49,0° 49,5°	29,1 „
	24 „	397 000 000 396 000 000	55,0° 55,0°	1,5 „
	72 „	—	69,0° 70,0°	0,5 „

VII. Einfluß der Temperatur.

Die Säurebildung durch Milchsäurebakterien wird bekanntlich durch ein Gärungsenzym verursacht, das gewöhnlich Laktacidase genannt wird.

Tabelle XXII.
Alte Bouillonkulturen des Stammes IV nach Milchzuckergabe.

Alter der Bouillonkultur	Zeit nach Zuckergabe	Bakterienzahl per ccm	Acidität	Stundenleistung
2 Tage	0 Stunden	10 200 000	22,5°	—
		13 500 000	22,5°	
	16 „	591 000 000	47,0°	13,2 × 10 ⁻¹⁰ mg
		594 000 000	47,5°	
	24 „	530 000 000	53,5°	1,3 „
		540 000 000	53,5°	
4 Tage	0 Stunden	21 600 000	22,5°	—
		22 800 000	22,5°	
	16 „	435 000 000	36,0°	7,9 „
		455 000 000	36,5°	
	24 „	669 000 000	49,5°	0,8 „
		683 000 000	50,0°	
21 Tage	0 Stunden	300 000	22,5°	—
			22,5°	
	16 „	66 000 000	22,5°	—
			22,5°	
	24 „	415 000 000	38,5°	13,9 „
			39,0°	
	48 „	—	55,5°	1,6 „

Obgleich das Enzym als Endoenzym in der Bakterienzelle verbleibt, ist es doch von der Zelle selbst unabhängig, nachdem es einmal gebildet ist. Es kann sogar nach dem Tode der Zelle noch seine Wirkung ausüben. Demnach darf nicht ohne weiteres angenommen werden, daß die Maximum-, Minimum- und Optimum-Temperaturen für Wachstum und Gärung die gleichen sind. Eine Beziehung zwischen beiden wird sich vermutlich feststellen lassen, da die Vermehrung bis zu einem gewissen Grade von der Gärung der Energiequelle abhängt. Zu diesen Versuchen sind jedoch eine Anzahl von zuverlässigen Thermostaten und sehr viel Zeit nötig.

Die einzigen Versuche über den Einfluß der Temperatur sind die in den Tabellen XXIII und XXIV zusammengestellten Versuche, die bereits vor 6 Jahren im Milchwirtschaftlichen Laboratorium zu Göttingen gemeinsam mit Professor R. Iwazumi, z. Z. in Morioka, Japan, angestellt wurden. Der erste der beiden Versuche betrifft ein sehr langsam wachsendes *Bacterium* in Milchzuckerbouillon bei 35° C. Die Stundenleistung ist hier $81,0 \times 10^{-10}$ mg, während sie bei 20° nur $24,0 \times 10^{-10}$ mg betrug. Die Temperatursteigerung von 15° hatte also die Stundenleistung nahezu vervierfacht.

Tabelle XXIII.

Zeit Stunden	Bakterienzahl	Säurezunahme	Stundenleistung
0	100	—	—
48	46 000 000	93,6 mg	$81,0 \times 10^{-10}$ mg
72	50 000 000	68,4 „	5,7 „
120	30 000 000	72,0 „	4,0 „

Der zweite Versuch betrifft drei genau gleiche Parallelbestimmungen mit einem anderen Stamm in Milch bei 30° C. Die Resultate für die ersten

26*

6 Stunden stimmen nicht gut überein, da infolge der sehr kleinen Säuremenge der Beobachtungsfehler sehr groß ist. Vergleichende Versuche bei Zimmertemperatur sind nicht gemacht worden. Immerhin darf die Stundenleistung als ziemlich hoch angesehen werden.

Tabelle XXIV.

Zeit	1		2		3	
	Acidität	Bakterienzahl	Acidität	Bakterienzahl	Acidität	Bakterienzahl
0	18,4°	17 700	18,4°	17 700	18,4°	17 700
6	22,0°	95 700 000	20,4°	115 500 000	20,0°	180 500 000
12	48,0°	6 660 000 000	54,4°	6 120 000 000	54,0°	6 700 000 000
24	96,8°	5 400 000 000	95,6°	5 300 000 000	98,4°	6 480 000 000

Stundenleistung.			
	1	2	3
0—6 Stunden	$70,0 \times 10^{-10}$	$32,9 \times 10^{-10}$	$17,7 \times 10^{-10}$ mg
6—12 „	3,6 „	5,1 „	4,3 „
12—24 „	0,6 „	0,5 „	0,5 „

Aus diesen beiden Versuchen läßt sich weiter kein Schluß ziehen, als daß die Stundenleistung bei 30°—35° größer ist als bei Zimmertemperatur.

Es wurden ferner Versuche über den Einfluß des Sauerstoffs auf Wachstumsgeschwindigkeit und Stundengärleistung angestellt, doch sind die Resultate zu allgemeinen Schlußfolgerungen nicht umfangreich genug. Da die Versuche vorläufig nicht fortgesetzt werden können, so muß deren Veröffentlichung vorerst unterbleiben. Es ist schließlich nicht beabsichtigt gewesen, das Thema zu erschöpfen, sondern vielmehr auf die Ausblicke hinzuweisen, die diese einfache Methode ermöglicht.

Für die Ausführung einiger dieser Versuche bin ich den Herren L. R. Himmelberger, W. W. Shanor und C. F. Barnum zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Es ist möglich, die von einer Zelle in einer Stunde gebildete Säuremenge so genau zu berechnen, daß größere Veränderungen dieser „Stundengärleistung“ erkannt werden können.

Zur Berechnung sind erforderlich die Bakterienzahl zu Beginn und Schluß des Experiments, die Versuchsdauer und die gebildete Säuremenge. Alle diese Daten können durch die gewöhnlichen Laboratoriumsmethoden bestimmt werden.

Die von der Einzelzelle¹⁾ von *Bacterium lactis acidii* in jungen Kulturen in einer Stunde gebildete Säuremenge betrug im Durchschnitt von 57 Einzelbestimmungen an 8 verschiedenen Stämmen 0,000 000 018 mg oder 18×10^{-10} mg. Dies ist annähernd das Gewicht einer Einzelzelle.

Wir haben keinen Beweis dafür, daß im ersten Entwicklungsstadium einer Kultur Wachstum ohne

¹⁾ Durch Plattenmethode bestimmt.

Gärung stattfindet. Sobald ein Nachweis der Gärprodukte analytisch möglich ist, zeigt es sich, daß die jüngsten Kulturen die größte Stundengärleistung haben.

Die Stundenleistung der einzelnen Stämme ist recht verschieden. Der schwächste Stamm produzierte $7,4 \times 10^{-10}$, der kräftigste $32,5 \times 10^{-10}$ mg Säure per Zelle und Stunde.

Die Stundenleistung nimmt mit dem Alter der Kultur ab, und wenn auch die Säure neutralisiert wird, ist doch die Stundenleistung kleiner. Alte Kulturen säuern auch nach Übertragung in ein frisches Medium nur langsam, da sowohl die Stundenleistung wie die Vermehrungsgeschwindigkeit gelitten haben. Alte Kulturen in zuckerfreien Lösungen halten sich erheblich besser.

Pepton beschleunigt die Säurebildung einiger Stämme, indem es eine schnellere Vermehrung der Bakterien verursacht, ohne jedoch die Stundenleistung zu ändern. Andere Stämme reagieren nicht auf Peptonzugabe.

In zuckerfreien Lösungen wachsen die Bakterien nur sehr langsam, zeigen jedoch nach dem Übertragen in Milch oder nach dem Hinzufügen von Milchzucker eine fast normale Wachstums- und Gärtätigkeit.

Die Stundenleistung ist von der Temperatur abhängig.

Nachtrag.

Nach Abschluß des Manuskripts fand ich in Kruses „Allgemeine Mikrobiologie“ zwei frühere Versuche, die Gärleistung der Einzelzelle zu bestimmen. Burchard (Archiv für Hygiene. Bd. 36. 1899. p. 283) bestimmte die Gärleistung der Harnstoffbakterien, indem er das geometrische Mittel der Anfangs- und Endzahl als die durchschnittliche Bakterienzahl annahm. Diese Berechnung ergibt die Zahl der Bakterien nach Verlauf der halben Versuchszeit; dies ist aber nicht, wie Burchard annimmt, die durchschnittliche, physiologisch wirksame Bakterienzahl. Seine Durchschnittszahl ist erheblich kleiner als die nach meiner Methode berechnete, und folglich ist die Stundenleistung nach seiner Berechnung erheblich größer, z. B. 300×10^{-10} mg nach Burchard gegen 66×10^{-10} mg nach Rahn. Daß die Burchardsche Berechnung nicht richtig ist, kann durch die Probe leicht nachgewiesen werden. Aus der Keimzahl 15 531 am Anfang des Versuchs und 42 720 000 nach 72 Stunden und einem Harnstoffverlust von 1,78 mg pro cbm berechnet Burchard 0,00 003 mg Harnstoff pro 1000 Zellen in der Stunde. Die Generationsdauer ist 6,3 Stunden. Nehmen wir selbst an, daß die letzte Generation nicht an der Harnstoffzersetzung beteiligt gewesen ist, was bei einer Versuchsdauer von 72 Stunden im Brutschrank unmöglich ist, so ergibt sich, daß die letzte gärende Generation während einer Generationsdauer $21\,360 \times 0,00\,003 \times 6,3$ mg Harnstoff zersetzt. Danach zersetzt die letzte Generation

allein schon 4,04 mg Harnstoff, was mit den ursprünglichen Daten in Widerspruch steht. Die nach meiner Methode berechnete Stundenleistung ergibt für die letzte Generation, unter den gleichen Annahmen, 0,88 mg zersetzten Harnstoff; daraus berechnet sich der von der vorletzten Generation zersetzte Harnstoff zu 0,44 mg, und die gesamte Harnstoffmenge ist dann $0,88 + 0,44 + 0,22 + 0,11 + 0,06 + \dots$. Die Summe der ersten fünf Glieder ist 1,71, die Berechnung basierte auf der Zahl 1,78, also ist die Übereinstimmung so gut wie man es nur erwarten kann.

Die zweite Arbeit ist ganz analog derjenigen von Burchard mit *Bac. acidilactici* Hueppe angestellt worden, ist also ebenfalls auf einer falschen Formel basiert (H a a k e, Archiv f. Hygiene. Bd. 42. p. 46.) Eine weitere Berechnung dieser Daten nach meiner Formel hat wenig Wert, da die Versuche 72 Stunden lang bei 37° gestanden haben, und daher die Bakterien schon zum Teil abgestorben sind.

Das geht auch schon aus der Generationsdauer hervor, die zwischen 6,3 und 14 Stunden schwankt, während man doch in einem günstigen Nährboden bei 37° nicht mehr als 30 Minuten erwarten dürfte. Aus diesen beiden Fehlern, der falschen Formel und der zu langen Versuchsdauer, erklären sich dann auch die Schlußfolgerungen, von denen einige sogar in die Lehrbücher eingedrungen sind. Vor allem bemerkenswert ist die Behauptung, daß, je schneller die Teilung eines Keims erfolgte, desto langsamer die Gärung stattfindet. Möglicherweise ist die Ansicht vom Inkubationsstadium als Wachstum ohne Gärung auf diese Arbeiten zurückzuführen.

Nachdruck verboten.

Das Verhalten der säure-labbildenden (acidoproteolytischen) Bakterien des Käses gegenüber niedrigen Temperaturen hinsichtlich ihrer Mitwirkung beim Reifen der Käse¹⁾.

Von Prof. Dr. Costantino Gorini,

Direktor des bakteriologischen Laboratoriums der K. landw. Hochschule zu Mailand.

Wie ich in früheren Arbeiten²⁾ nachzuweisen mich bemüht habe, sind zur Unterstützung meiner Ansicht, daß beim Reifen der Käse jene physiologische Gruppe von Spaltpilzen mitwirkt, die von mir aufgefunden und in die Literatur unter dem Namen „säure-labbildende Bakterien“ eingeführt worden ist, zwei Beweisgründe maßgebend: 1. Die Fähigkeit der erwähnten Bakterien, auch in saurer Umgebung sich zu entwickeln und in derselben das Kasein zu peptonisieren, weswegen sie, besonders vom praktischen Standpunkte aus, die Bezeichnung „acidoproteolytische“ („bei Säure eiweißlösende“) verdienen, wodurch man sie von den gewöhnlichen peptonisierenden Bakterien (*Tyrothrix* von Duclaux usw.), welche das

¹⁾ Diese Arbeit wurde in der Reale Accademia dei Lincei vorgelegt. Sie knüpft an eine andere Arbeit von mir über die mikrobischen Labarten an, welche dem R. Istituto Lombardo di Sc. e Lett. vorgelegt worden ist (s. Rend. 1908. p. 122.)

²⁾ Siehe besonders meine Arbeiten in Rend. R. Ist. Lomb. sc. e lett. 1904. 37. p. 939; Rend. R. Acc. Lincei. 14. 1905. 2. sem. und Rend. R. Acc. Lincei. 1910. 19. p. 150.

Kasein nur in alkalischer oder neutraler Umgebung angreifen, unterscheidet.¹⁾

2. Die beständige Gegenwart von Spezies, die zu der erwähnten Bakteriengruppe gehören, in den Hartkäsen (*Micrococcus acidoproteolyticus* I und II; *Bacillus casei acidoproteolyticus*).²⁾

In der vorliegenden Arbeit beabsichtige ich, zur Unterstützung meiner Behauptung einen dritten Beweisgrund vorzuführen, und zwar betrifft dieser das Verhalten der säurelabbildenden Bakterien gegenüber niedrigen Temperaturen.

Das Verhalten der säurelabbildenden Bakterien gegenüber niedrigen Temperaturen soll unter zwei Gesichtspunkten betrachtet werden, und zwar hinsichtlich der Fortpflanzung der Bakterien und hinsichtlich der Tätigkeit ihrer Enzyme. Ich will schon jetzt hervorheben, daß, wie sich zeigen wird, sowohl in der einen, wie der andern Hinsicht diese Bakterien Eigenschaften besitzen, die sich als besonders geeignet erweisen für das, was wir das Überwintern der Käse nennen können.

Wenn wir die verschiedenen Typen von Hartkäsen näher betrachten, so bemerken wir, daß sie während des Lagerns mehr oder weniger eine Periode von niedrigen Temperaturen durchzumachen haben, nämlich von Temperaturen, die weniger als 10° C betragen. Allerdings können alle Käse, die im Winter hergestellt werden, von dieser Durchgangsperiode nicht ausgeschlossen werden, denn auch diejenigen Typen, die in wenigen Monaten reifen und die während der ersten Gärung im Heizungskeller gehalten werden (die Schweizer-typen im allgemeinen), bleiben einige Zeit, sei es vor der warmen Lagerung, sei es nach derselben, den Einflüssen der Witterung ausgesetzt. Aber das Überwintern kommt besonders zur Geltung bei denjenigen Käsetypen, wie dem Parmesan, die zwei oder mehr Jahre zum Reifen brauchen und die nicht warmen Lagerungen unterworfen werden. Es ist klar, daß diese Käse notwendigerweise nicht eine, sondern mehrere Perioden niedriger Temperaturen durchmachen müssen. Ich hatte Gelegenheit, festzustellen, daß auch in den am besten eingerichteten Lagerungsräumen für Parmesan die Wintertemperatur zuweilen bis unter 5° C herabgeht.

Nun habe ich mich mehrmals gefragt, ob etwa während eines solchen Überwinterns die Flora der Käse ihre Tätigkeit einstellt und in latentem, gleichsam lethargischem Zustande bleibt, um ihre Vermehrung und Wirksamkeit mit dem Wiedereintreten der günstigen Temperaturen wieder aufzu-

¹⁾ Wie ich schon anderswo bemerkt habe, war dieser Beweisgrund, welcher gerade den Ausgangspunkt für meine Hypothese bildete, zugleich hinreichend, um die Einwände zu entkräften, die man gegen die Annahme einer Mitwirkung von peptonisierenden Bakterien beim Reifen der Käse vorbringen konnte. Denn diese Einwände stützten sich bekanntlich gerade auf die Erwägung, daß die bis damals bekannten peptonisierenden Bakterien in ihrer Entwicklung durch die saure Reaktion, die im Innern der Käse durch die Tätigkeit der Milchsäurebakterien hervorgerufen wird, behindert würden.

²⁾ In analoger Weise, wie ich für die säurelabbildenden Kokken der Käse eine Bezeichnung aufgestellt habe, benenne ich mit dem oben angegebenen Ausdruck den säurelabbildenden *Bacillus* des Parmesankäses, den ich in einer früheren Arbeit beschrieben (Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett. Vol. 37. 1904) und den ich hernach auch im Emmentaler Käse vorgefunden habe. Die Beschreibung von den säurelabbildenden Kokken der Käse (*Micrococcus acidoproteolyticus* I und II) findet sich in Rend. R. Acc. Lincei. 19. 1910. p. 150. — S. auch Milchw. Centralbl. 1911. H. 10. p. 434.

nehmen, oder ob sie einfach eine Schwächung ihrer Tätigkeit erfährt. In dieser Hinsicht habe ich die verschiedenen Bakterienspezies, die ich nach und nach aus den Parmesankäsen isoliert habe, einer Kultivierung in Milch bei verschiedenen Temperaturen, die bis auf etwa 5° C hinabgingen, unterworfen. Die isolierten Spezies gehörten zum Teil der Gruppe der eigentlichen Milchsäurebakterien,¹⁾ zum Teil der Gruppe der säurelabbildenden Bakterien an. Indem ich die Versuche wiederholte und in angemessener Weise ausdehnte, habe ich Folgendes feststellen können: Die eigentlichen Milchsäurebakterien lieben im allgemeinen etwas hohe Temperaturen, welche wenigstens bis etwa 20° C hinaufgehen; nur die eine oder andere Rasse oder Varietät wächst auch bei etwa 15° C, aber nicht zu weit unterhalb dieser Temperatur; dagegen gedeihen die säure-labbildenden Bakterien und besonders einige azido-proteolytische Kokken auch unter 10° C. Die Aussaaten dieser Kokken in Milch, die zwischen 5° C und 8° C gehalten werden, koagulieren allerdings nicht, zeigen aber nach Verlauf von 15—20 Tagen einen Peptonisierungsprozeß mit amphoterer Reaktion, bei welcher sie also die natürliche Reaktion der Milch nicht verändern, während derselbe Keim, bei 20—30° C kultiviert, damit beginnt, die Milch in 24—48 Stunden mit entschieden saurer Reaktion zu koagulieren, und sie hernach peptonisiert. Dieses besondere Verhalten der säure-labbildenden Bakterien gegenüber niedrigen Temperaturen, ein Verhalten, welches sie von den eigentlichen Milchsäurebakterien unterscheidet, ist vor allem wichtig, weil es zur Aufsuchung derselben verwertet werden kann. Es ist sodann für die vorliegende Frage wichtig, weil es gestattet, anzunehmen, daß während der Periode des Überwinterns die mikrobielle Tätigkeit im Innern der Käse, wenigstens was die säure-labbildenden Bakterien angeht, bestehen bleiben kann, wenn sie auch verlangsamt und beschränkt wird.

Noch wichtiger ist das Verhalten der proteolytischen Enzyme der säure-labbildenden Bakterien gegenüber niedrigen Temperaturen, denn die erwähnten Enzyme erweisen sich fähig, auch bei niedrigeren Temperaturen tätig zu sein, als denen, die der Entwicklung der Keime selbst zuträglich sind. Ich habe dies schon in einer anderen Arbeit bei Besprechung einer säure-labbildenden Bakterie des Euters (*Bacillus minimus m a m m a e*) nachweisen können, welche sich kaum unterhalb 20° C²⁾ entwickelt; ich habe es bestätigen können hinsichtlich anderer Bakterien derselben Art, unter welchen die säure-labbildenden Kokken und Bazillen des Käses zu nennen sind. Wenn man Kulturen der erwähnten Bakterien in Milch nimmt, nachdem sich diese Kulturen bei günstiger Temperatur gut entwickelt haben, und man sie in einem Eiskeller bei 0° bis 5° C aufbewahrt, so gewahrt man ein langsames, aber allmählich zunehmendes Fortschreiten ihrer Peptonisierung, obwohl das Leben der Keime dabei zum Stillstand gebracht ist; offenbar sind es die Bakterienenzyme, die ihre proteolytische Arbeit fortsetzen, unabhängig von einer Fortpflanzungstätigkeit seitens der Bakterien selbst. Dieses beweist, daß die enzymatische Tätigkeit der säurelabbildenden Bakterien auch in

¹⁾ Ich halte es nicht für überflüssig, daran zu erinnern, daß unter *eigentlichen Milchsäurebakterien* die Milchbakterien zu verstehen sind, die die Milch mit saurer Reaktion, ohne Gasbildung und ohne weiterhin erfolgende Peptonisierung, koagulieren.

²⁾ Gorini, Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett. 1907. p. 947 u. 1908. p. 122.

den Perioden des tiefsten Überwinterns, selbst wenn die Mikrobenvegetation vollständig ruht, möglich ist.

Aus den Gesamtergebnissen meiner Untersuchungen über das Verhalten der säure-labbildenden Bakterien gegenüber niedrigen Temperaturen läßt sich also schließen, daß ihre Tätigkeit, besonders aber die Tätigkeit ihrer proteolytischen Enzyme, auch für die Perioden des Überwinterns der Käse in den Reifungskellern erklärlich erscheint.

Dieses Verhältnis, welches einen weiteren Beweisgrund für die wichtige Bedeutung der säure-labbildenden und eiweißlösenden Bakterien beim Reifen der Käse bildet, stimmt auch mit der amerikanischen Theorie über das Lagern der Käse bei niedrigen Temperaturen überein.

Es ist ja bekannt, daß die amerikanischen Forscher, indem sie von der Auffassung ausgingen, daß in dem Prozeß des Reifens der Käse die natürlichen Enzyme der Milch (die Galaktase) und die im Lab enthaltenen Enzyme eine große Bedeutung haben, und nachdem sie festgestellt hatten, daß diese Enzyme auch bei niedrigen Temperaturen wirksam sind, schon seit längerer Zeit Versuche mit dem Lagern der Käse in Kältekammern¹⁾ angestellt haben, und zwar hauptsächlich in der Absicht, die abnormen Gärungen in den Käsen zu verhüten, die von Keimen herrühren, welche sich bei hohen Temperaturen der Umgebung entwickeln. Es ist nicht meine Absicht, hier eine solche Frage zu behandeln; nur möchte ich bemerken, daß, sobald die amerikanische Methode des Lagerns der Käse in den Kältekammern wirklich gute Resultate ergibt, man in dem Verhalten der säure-labbildenden Bakterien und besonders ihrer Enzyme gegenüber niedrigen Temperaturen einen wirksamen Faktor bei ihrem Erfolge erblicken müßte. Es würde natürlich genügen, daß die Käse in die Kältekammer gebracht würden, nachdem sich in den Käsen eine hinreichende Vermehrung und Verbreitung von säure-labbildenden Bakterien kundgegeben hat, was bekanntlich schon in den allerersten Tagen der Fabrikation geschieht.

Die oben entwickelten Darlegungen bieten mir ebenfalls Gelegenheit, auf eine andere Reihe von Erwägungen zur Unterstützung meiner Ansichten zurückzukommen.

Wir haben gesehen, daß die enzymatische Tätigkeit der säure-labbildenden Bakterien auch bei Temperaturen möglich ist, bei denen sich dieselben im latenten Leben befinden. Dies stellt eine neue Bestätigung dessen dar, was ich schon in einer früheren Arbeit andeutete, daß nämlich die erwähnte Tätigkeit möglich sei, auch wenn das Leben der Bakterien vollständig erloschen ist, so daß also nur die körperlichen Überreste der die Enzyme selbst produzierenden und in sich schließenden Keime zurückbleiben. Mit anderen Worten, um die Mitwirkung der säure-labbildenden Bakterien in den verschiedenen Reifungsphasen der Käse vorauszusetzen, ist es nicht nötig, zu zeigen, daß sie sich bei fortdauerndem Leben im Innern der Käse befinden; es genügt, sich zu vergewissern, daß dieselben darin existiert und sich darin vorher ausgiebig entwickelt haben. Die von ihnen produzierten intra- und extrazellularen Enzyme sorgen dafür, die Tätigkeit derselben ebenso wie während des Überwinterns so auch *post mortem* fortzusetzen. So

¹⁾ Siehe besonders die Arbeiten von Babcock, Russell, Baer, Van Slyke, Smith, Hart usw. in den Bulletins des U. S. Department of Agriculture. 1903 u. folg.

wird der Einwand völlig hinfällig, den die Anhänger der exklusivischen Theorie Freudenreichs immer gegen meine Theorie vorbringen. Während sie anerkennen, daß in den ersten Tagen der Fabrikation der Käse eine üppige Entwicklung von säure-labbildenden Bakterien vor sich geht, bemerken sie, daß sich diese Bakterien hernach vermindern und den eigentlichen Milchsäurebakterien die Vorherrschaft überlassen. Der eine und andere geht sogar so weit, zu behaupten, daß die säure-labbildenden Bakterien sehr bald gänzlich aus den Käsen verschwinden. Dies kann aber nicht als richtig angesehen werden, wie solches meine Untersuchungen gezeigt haben, die vor kurzem auch durch die Untersuchungen anderer Forscher (Thöni¹⁾, Harding und Prucha²⁾ bestätigt worden sind, nach denen die säure-labbildenden Bakterien sich auch in den Phasen einer weit fortgeschrittenen Reifung vorfinden.

Auf jeden Fall hat nach unserer ganzen Erörterung über die Unabhängigkeit der Tätigkeit der proteolytischen Enzyme von dem Leben der Bakterien, die dieselben hervorgebracht haben, die Feststellung des Lebens und der Menge der erwähnten Keime Bedeutung nur für die Anfänge des Reifens. Alle Autoren bestätigen übereinstimmend, daß alle Hartkäse in den ersten Tagen ein üppiges Auftreten von säure-labbildenden Kokken aufweisen.

Zusammenfassung.

Die oben dargelegten Untersuchungen und Betrachtungen, die meiner Theorie über die Mitwirkung und die Bedeutung der säure-labbildenden-eiweißlösenden Bakterien in dem Reifungsprozeß der Käse zur Unterstützung dienen, lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Die säure-labbildenden Bakterien der Käse, besonders aber einige acidoproteolytische Kokken vermögen sich auch bei Temperaturen unter 10° C zu entwickeln, so daß sie, abweichend von den eigentlichen Milchsäurebakterien, imstande sind, im Innern der Käse auch während der Perioden des Überwinterns dieser Käse in den Reifungsräumen zu wirken, wie dies besonders bei den Käsen mit langdauernder Reifung (Parmesan, Sbrinz usw.) der Fall ist.

2. Die proteolytischen Enzyme der säure-labbildenden Bakterien vermögen bei noch niedrigeren Temperaturen, nämlich unterhalb 5° C, zu wirken, bei welchen Temperaturen das Mikrobenleben, wie man annehmen muß, im allgemeinen zum Stillstand gebracht ist, so daß sie also imstande sind, im Innern der Käse auch während außerordentlich kalter Perioden des Überwinterns ihre Tätigkeit auszuüben.

3. Die Fähigkeiten der säure-labbildenden Bakterien und ihrer proteolytischen Enzyme stimmen

¹⁾ Thöni, Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1909.

²⁾ Harding u. Prucha, New York Agric. Exper. Station. Bulletin 8. 1908.

also mit den neueren Ansichten der amerikanischen Schule über die Möglichkeit, das Reifen der Käse in Eiskellern zuwege zu bringen, überein.

4. Die Fähigkeit der proteolytischen Enzyme der säure-labbildenden Bakterien, bei sehr niedrigen Temperaturen unabhängig von dem Leben der Bakterien selbst zu wirken, stellt eine neue Bestätigung dessen dar, was ich schon in einer früheren Arbeit angedeutet habe; nämlich, daß man, um den Einfluß der erwähnten Bakterien in den verschiedenen Reifungsphasen der Käse anzunehmen, nicht die Fortdauer ihres Lebens während aller der einzelnen Phasen nachzuweisen braucht. Es genügt, zu zeigen, daß sie eine hinreichend üppige Entwicklungsperiode während der Anfangsphase gehabt haben, wie eine solche Entwicklungsperiode gegenwärtig von allen Autoren bei allen Hartkäsen anerkannt wird; für die Fortsetzung ihrer Arbeit sorgen dann die intra- und extrazellulären Enzyme, die von ihnen hervorgebracht sind.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über das Kalibedürfnis von Azotobacter.

[Aus der Abteilung für Agrikulturchemie, Bakteriologie und Saatzucht des Kaiser Wilhelms-Instituts für Landwirtschaft in Bromberg.]

Von Dr. Vogel.

Im Jahre 1903 haben Gerlach und ich¹⁾ Untersuchungen über den Nährstoffbedarf von *Azotobacter* ausgeführt. Wir konnten damals feststellen, daß Kalk und Phosphorsäure für die *Azotobacter* organismen unentbehrliche Nährstoffe sind, daß sie dagegen Kali- und Natronverbindungen für ihre Entwicklung nicht unbedingt gebrauchen. Allerdings verliefen bei Gegenwart dieser mineralischen Nährstoffe oder auch nur eines derselben Wachstum und Stickstoffbindung erheblich energischer. Wir fanden damals in je 1000 ccm der verwendeten Nährlösungen

	nach 45 Tagen:	nach 62 ev. 67 Tagen
ohne Kali	24,1 mg Stickstoff	21,6 mg Stickstoff
„ Natron	17,1 „ „	18,0 „ „
„ Kali und Natron	20,8 „ „	21,2 „ „
sämtliche anorganische Stoffe	28,7 „ „	41,4 „ „
		49,0 „ „
		20,3
		45,2

Innerhalb der ersten 45 Tage war demnach die Stickstoffaufnahme in den Kolben ohne Kali und Natron nicht viel geringer, als in denjenigen, welche sämtliche anorganischen Nährstoffe enthielten, erst später blieben sie hinter diesen zurück.

Durch die chemische Untersuchung konnte in unseren kalifreien Nährlösungen nach Beendigung der Versuche auch tatsächlich Kali nicht nachgewiesen werden, wir durften daher annehmen, daß es uns gelungen war,

¹⁾ Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 10. 1903. p. 636.

diesen Nährstoff völlig auszuschließen, und wir hielten es auf Grund dieses Befundes für möglich, daß Kali oder Natron, wenn auch nur zum Teil durch Kalk vertreten werden können. Hinsichtlich des Natrons erschien eine derartige Annahme nicht so überraschend, denn es ist kein unentbehrlicher Pflanzennährstoff, obwohl es die Organismenentwicklung in vielen Fällen begünstigt. Weit mehr überraschte es dagegen, daß auch ohne Kali Wachstum und Stickstoffaufnahme eingetreten war. Wir erklärten diesen eigenartigen Befund in folgender Weise: „Das Kali tritt bei den grünen Pflanzen besonders in Tätigkeit, wenn es sich um die Bildung von Kohlehydraten, resp. deren intermediären Produkten aus Kohlensäure und Wasser handelt. Dieser Prozeß findet aber in den Bakterienzellen, sowie überhaupt im Innern aller chlorophyllfreien Organismen nicht statt. Die Hauptaufgabe, welche das Kali bei den grünen Pflanzen zu erfüllen hat, fällt demnach hier fort, und so wird es erklärlich, daß Wachstum der Bakterien ohne Kali eintreten kann, sofern nur die übrigen anorganischen Nährstoffe, wie Phosphorsäure, Kalk, eventuell Eisen und außerdem kohlenstoffhaltige Nahrungsstoffe zugegen sind.“

Diese Resultate sind von Christensen¹⁾ bestätigt worden, der gelegentlich seiner Arbeiten über das Vorkommen von *Azotobacter* in verschiedenen Böden Dänemarks ebenfalls das Verhalten dieses Mikroben gegenüber Kalk, Phosphorsäure und Kali prüfte und dabei fand, daß Kalk und Phosphorsäure für die Entwicklung von *Azotobacter* und für die Entfaltung seiner stickstoffsammelnden Fähigkeiten unbedingt erforderlich sind, während Kali fehlen bzw. durch Kalk vertreten werden kann.

Später sind dann von verschiedenen Seiten Zweifel geäußert worden, ob es bei den von uns angestellten Versuchen tatsächlich gelungen war, jede Spur von Kalisalzen auszuschließen. Benck²⁾ gibt zwar die Möglichkeit, daß das Kali entbehrlich sei, unbedingt zu, meint aber, daß die von uns angewandte Methodik keine Gewähr für absolute Kalifreiheit der Nährlösungen bot.

Besonders eingehend hat sich dann H. Krzemieniewska³⁾ mit der Frage des Mineralstoff- und speziell des Kalibedürfnisses von *Azotobacter* beschäftigt. Sie ist bei Einhaltung peinlichster Vorsichtsmaßregeln zu dem Ergebnis gelangt, daß bei völligem Ausschluß von Kali keine Entwicklung von *Azotobacter* eintreten kann, daß daher dieser Nährstoff für die Lebenstätigkeit des genannten Stickstoffsammlers unbedingt erforderlich ist.

Schon nach dem Bekanntwerden einer vorläufigen Mitteilung von Krzemieniewska⁴⁾, in welcher sie die Richtigkeit unserer Versuchsergebnisse anzweifelte, habe ich das Studium der strittigen Frage wieder aufgenommen und zunächst eine Anzahl von Versuchen in der gleichen Anordnung wie früher ausgeführt.

Im Oktober 1908 wurden 6 große Erlenmeyerkolben mit je 1000 ccm einer „kalifreien“ Nährlösung beschickt, welche auf 1 l dest. Wasser enthielt: 0,5 g Dicalciumphosphat, 0,5 g Calciumkarbonat, 0,5 g Chlornatrium, Spur Ferrosulfat und 10 g Traubenzucker. Alle Chemikalien waren in reinsten Form von C. A. F. Kahlbaum - Berlin bezogen worden. Die Nährlösungen

¹⁾ Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. II. Bd. 17. p. 109.

²⁾ L a f a r, Handb. der techn. Mykol. Bd. 1. p. 389.

³⁾ Bull. de l'Acad. d. scienc. de Cracovie. 1910. p. 376.

⁴⁾ Bull. de l'Acad. d. scienc. de Cracovie. 1908. p. 445.

wurden mit 3 verschiedenen Reinkulturen von *Azotobacter chroococcum* geimpft und mit 2 ungeimpft gebliebenen Kontrollen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Schon nach wenigen Tagen war in allen 6 Kulturen kräftige Vermehrung der *Azotobacter* zellen erfolgt. Nach 34-tägigem Stehen wurde die Untersuchung der Kulturen auf ihren Stickstoff- und Kaligehalt vorgenommen. Im mikroskopischen Bild erschienen die *Azotobacter* zellen als große kugelige Gebilde, oft zu sarcineartigen Paketen aneinanderliegend mit körnigem Inhalt und zum Teil noch starker Beweglichkeit. Je eine der Parallelkulturen wurde angesäuert, im Kjeldahlkolben konzentriert und nach Zugabe eines Tropfens Quecksilber mit konzentrierter Schwefelsäure aufgeschlossen, die 2. Kultur wurde in große Platinschalen übergespült, zur Trockne eingedampft und weiter auf Anwesenheit von Kalisalzen geprüft. Es geschah dies derart, daß der in den Platinschalen verbleibende Rückstand nach der Veraschung im Muffelofen mit Königswasser und konzentrierter Salzsäure abgeraucht, 2 Stunden im Trockenschrank bei 100° getrocknet, die hinterbliebene Asche mit verdünnter Salzsäure und Wasser in einen Meßkolben von 250 ccm Inhalt übergespült und in 200 ccm der Flüssigkeit nach Ausfällung der Schwefelsäure, der P_2O_5 , des Eisens, Kalks und überschüssigen Bariums und nach Verjagen der Ammoniaksalze das Kali nach der Überchlorsäuremethode bestimmt wurde. Das überchlorsaure Kali wurde nochmals in heißem Wasser gelöst, die Lösung in einer Platinschale zur Trockne eingedampft, der Rückstand schwach gegläht und das Kali wiederum mit Überchlorsäure gefällt. Es ergaben sich folgende Zahlen:

No.	Kulturen:	gefunden mg Stickstoff	wurden mg Kali
1)	Versuchsfeld Parzelle 6	18,6	—
2)		—	4,25
3)	Versuchsfeld Parzelle 8	18,1	—
4)		—	11,26
5)	Versuchsfeld Parzelle 18b	13,0	—
6)		—	7,96
Kontrollen (je 1000 ccm der ungeimpften Nährlösung):			
1	—	0,21	—
2	—	—	5,22

Es war also bei den beschriebenen Versuchen nicht gelungen, das Kali völlig auszuschließen, und die vorhandenen Mengen waren sogar verhältnismäßig hoch. Die Stickstoffsammlung war bei diesen und allen folgenden Versuchen erheblich geringer als bei den Untersuchungen der Jahre 1901 bis 1903. Es war mir nicht möglich, *Azotobacter* kulturen zu gewinnen, die von so großer Wirksamkeit waren, wie die früher isolierten und zu den damaligen Versuchen verwendeten. Vielleicht hat die Benutzung reiner Nährsalze, besonders der chemisch reinen Glukose, die geringere Entwicklung und Stickstoffbindung zur Folge gehabt, denn aus Untersuchungen Kaserers¹⁾ geht unzweifelhaft hervor, daß das Wachstum von *Azotobacter* in Nährlösungen, welche chemisch reinen Traubenzucker enthielten, stets viel schwächer war, als bei Gegenwart des weniger reinen technischen Präparates.

Da die Möglichkeit bestand, daß das gefundene Kali wenigstens teilweise während der *Azotobacter* entwicklung aus den Glaswandungen der Kulturgefäße aufgenommen worden war, wurden nochmals 3 l der-

¹⁾ Ztschr. f. d. landw. Versuchswes. in Österr. 1911. p. 97.

selben kalifreien Nährlösung hergestellt und sofort auf ihren Kaligehalt untersucht. Außerdem kam eine zweite Nährflüssigkeit, in welcher das Chlornatrium weggelassen worden war, die aber im übrigen dieselbe Zusammensetzung hatte, zur Untersuchung auf Anwesenheit von Kali. Das Ergebnis war:

	mg K_2O in 1000 ccm
Lösung I (mit NaCl-Zusatz)	a) 17,69 b) 13,74
„ II (ohne „)	a) 0,54 b) 0,34

Diese Zahlen zeigen, daß das gefundene Kali in dem der Nährlösung zugesetzten Chlornatrium enthalten war. Bei den folgenden Versuchen wurde daher ein anderes Präparat von chemisch reinem Chlornatrium verwendet, das außerdem durch mehrmaliges Umkristallisieren gereinigt worden war. In 0,5 g dieses Salzes konnten mittels der Überchlorsäuremethode und auch durch Fällung mit Platinchlorid je 0,7—0,8 mg K_2O nachgewiesen werden.

Es wurden nunmehr am 15. Januar 1909 die folgenden Versuchsreihen angesetzt:

1) 6 Erlenmeyerkolben mit je 1000 ccm Nährlösung ohne Kali und Natron (Kolben 1—6).

2) 6 Erlenmeyerkolben mit je 1000 ccm Nährlösung ohne Kali, aber mit Natron (Kolben 7—12).

Die Kolben 1—3 und 7—9 blieben ungeimpft, 4—6 und 10—12 wurden mit einer Reinkultur von *Azotobacter chroococcum* geimpft.

Eine am 16. Februar 1909 vorgenommene mikroskopische Untersuchung ergab, daß sich in allen geimpften Kolben *Azotobacter* gut entwickelt hatte. Die Flüssigkeiten waren erfüllt von den typischen großen, runden, vielfach stark gekörnten Zellen. Am 19. Februar 1909 wurden die Kolben 1, 4, 7 und 10 auf ihren Gehalt an Stickstoff, die übrigen auf Anwesenheit von Kali untersucht.

Es ergaben sich folgende Zahlenwerte:

N-Bestimmungen:				
Kolben 1.	Ohne K und Na	1,38 mg N in 1000 ccm	} Ungeimpft	
„ 7.	„ K mit Na	1,72 „ „		
„ 4.	„ K und Na	11,93 „ „		
„ 10.	„ K mit Na	12,85 „ „	} Mit Azotobacter geimpft.	
K ₂ O-Bestimmungen:				
Kolben 2.	Ohne K und Na	1,0 mg K ₂ O in 1000 ccm	} Ungeimpft	
„ 3.	„ K und Na	1,7 „ „		
„ 8.	„ K mit Na	0,7 „ „		
„ 9.	„ K mit Na	0,3 „ „		
„ 5.	„ K und Na	0,8 „ „	} Mit Azotobacter geimpft.	
„ 6.	„ K und Na	0,3 „ „		
„ 11.	„ K mit Na	2,0 „ „		
„ 12.	„ K mit Na	verloren gegangen		

Es waren demnach selbst in den Nährlösungen, die keine Zugabe von Chlornatrium erhalten hatten, sehr geringe Mengen von Kali nachweisbar, auf die vielleicht die *Azotobacter*-entwicklung und die beobachtete Stickstoffsammlung zurückgeführt werden konnten. Da es unmöglich schien, die Anwesenheit so minimaler Kalimengen bei der gewählten Versuchsanordnung zu vermeiden, so sollte durch einen weiteren Versuch festgestellt werden, ob die absichtliche Zugabe von Kalisalzen eine bemerkenswerte Stei-

gerung der Stickstoffsammlung zur Folge hatte, ähnlich wie das bei unseren früheren Untersuchungen der Fall war.

Am 11. Februar 1910 wurden daher folgende Nährlösungen hergestellt:

Nährlösung I ohne K_2O und Na_2O	Nährlösung II ohne K_2O , mit Na_2O	Nährlösung III mit K_2O und Na_2O
8 g Mannit	8 g Mannit	8 g Mannit
0,5 g $CaCO_3$	0,5 g $CaCO_3$	0,5 g $CaCO_3$
0,5 g $CaHPO_4$	0,5 g $CaHPO_4$	0,5 g $CaHPO_4$
0,2 g $FeSO_4$	0,5 g $NaCl$	0,5 g $NaCl$
1000 ccm H_2O	0,2 g $FeSO_4$	0,5 g K_2HPO_4
	1000 ccm H_2O	0,2 g $FeSO_4$
		1000 ccm H_2O .

Es war also an Stelle des Traubenzuckers chemisch reiner Mannit verwendet worden, von welchem 10 g nur 1,5 mg Asche hinterließen. Das benutzte Chlornatrium war in der oben beschriebenen Weise gereinigt worden und enthielt auf 0,5 g 0,7—0,8 mg K_2O . Die Lösungen wurden in Mengen von je 1000 ccm in großen *Erlenmeyer* kolben hergestellt, sterilisiert und hierauf zwei Kolben jeder Reihe mit einer Reinkultur von *Azotobacter* geimpft, während zwei weitere ungeimpft blieben. Am 12. März 1910 wurde in je einer Kultur jeder Reihe Stickstoff, in je einer zweiten Kultur Kali bestimmt. Es ergab sich:

1) Nach 30-tägigem Stehen der Kulturen:

Nährlösung I. Ohne K und Na:

Kolben 1.	Geimpft mit <i>Azotobacter</i>	17,52 mg N in 1000 ccm
" 2.	" " "	0,39 mg K_2O in 1000 ccm
" 3.	Ungeimpft	1,20 mg N in 1000 ccm.

Nährlösung II. Ohne K mit Na:

Kolben 4.	Geimpft mit <i>Azotobacter</i>	19,60 mg N in 1000 ccm
" 5.	" " "	0,560 mg K_2O in 1000 ccm
" 6.	Ungeimpft	1,20 mg N in 1000 ccm.

Nährlösung III. Mit K und Na:

Kolben 7.	Geimpft mit <i>Azotobacter</i>	22,00 mg N in 1000 ccm
" 8.	" " "	300,4 mg K_2O in 1000 ccm
" 9.	Ungeimpft	1,20 mg N in 1000 ccm.

Nach einmonatlicher Aufbewahrung der Kulturen waren demnach keinerlei Differenzen in der Stickstoffbindung eingetreten, gleichviel, ob die Kulturen 300 mg oder nur 0,5 mg K_2O enthielten. Die verbliebenen Kulturen wurden nach abermals 30 Tagen in gleicher Weise untersucht und es ergaben sich nun die folgenden Werte:

2) Nach 60-tägigem Stehen der Kulturen:

Nährlösung I. Ohne K und Na:

Kolben 10.	Geimpft mit <i>Azotobacter</i>	15,80 mg N in 1000 ccm
" 11.	" " "	0,44 mg K_2O in 1000 ccm
" 12.	Ungeimpft	1,84 mg N in 1000 ccm.

Nährlösung II. Ohne K mit Na:

Kolben 13.	Geimpft mit <i>Azotobacter</i>	19,12 mg N in 1000 ccm
" 14.	" " "	0,65 mg K_2O in 1000 ccm
" 15.	Ungeimpft	1,62 mg N in 1000 ccm.

Nährlösung III. Mit K und Na:

Kolben 16.	Geimpft mit <i>Azotobacter</i>	40,32 mg N in 1000 ccm
" 17.	" " "	297,5 mg K_2O in 1000 ccm
" 18.	Ungeimpft	1,62 mg N in 1000 ccm.

Mithin hat der früher von uns mitgeteilte Befund volle Bestätigung gefunden. Bei längerer Versuchsdauer ist die Stickstoffsammlung in den

ausreichend mit Kali versehenen Nährlösungen erheblich stärker als in denjenigen, in welchen Kali nicht oder nur in Spuren vorhanden ist. Es war bisher also nicht gelungen, absolut kalifreie Nährlösungen zu bereiten, die letzten Spuren von Kali ließen sich bei der gewählten Versuchsanordnung nicht ausschließen, und es soll nicht in Abrede gestellt werden, daß vielleicht auch bei unseren früheren Versuchen trotz des negativen Ausfalls der chemischen Untersuchung Spuren von Kali vorhanden waren, die sich der analytischen Bestimmung entzogen hatten. Aus dem zuletzt angeführten Versuch geht aber immerhin hervor, daß die Menge des vorhandenen Kalis von Einfluß auf die Menge des festgelegten Stickstoffes bei länger fortgesetzter Versuchsdauer ist. Wenn daher der Versuch wegen des Vorhandenseins kleiner Kalimengen in allen Nährlösungen auch nicht zur Stütze unserer Behauptung von der Bedeutungslosigkeit des Kalis dienen kann, so zeigt er doch andererseits, daß die minimalen Mengen von Kalisalzen — 0,0087 mg K_2SO_4 —, die sich nach einem Versuche Krzemieniewskas als ausreichend zur völligen Deckung des Kalibedarfs von *Azotobacter* erwiesen, in der von mir verwendeten Nährlösung der ohne Zweifel bestehenden Aufnahmefähigkeit von Kali nicht annähernd genügen konnten, denn hier bewirkte die Zugabe von Kali zu einer selbst 0,5 mg K_2O enthaltenden Nährlösung noch eine bedeutende Steigerung der Stickstoffbindung bei genügend langer Versuchszeit.

Da es Krzemieniewska nach einer Notiz in ihrer vorläufigen Mitteilung gelungen war, kalifreie Nährlösungen herzustellen, in welchen überhaupt keine *Azotobacter*-Entwicklung eintrat, ich aber selbst in einer sehr kaliarmen Nährlösung eine Stickstoffsammlung konstatieren konnte, die sich erst bei längerer Versuchsdauer in ihrer Intensität von der der kalihaltigen Nährlösungen unterschied, wandte ich mich an Frau Prof. Krzemieniewska mit der Bitte um nähere Angabe über die von ihr benutzte Methodik. Diese Angaben wurden mir in bereitwilligster Weise in einem Schreiben des Herrn Prof. Krzemieniewski vom 27. März 1910 gemacht, in welchem die Herstellung der kalifreien Nährlösungen beschrieben war. Ich konnte daher bei weiteren Versuchen, die ich am 23. August 1910 ansetzte, die mir mitgeteilten, von H. Krzemieniewska beobachteten Kautelen ebenfalls berücksichtigen. Das verwendete Wasser wurde jetzt vorher aus Kolben und Kühlern von Jenaer Glas destilliert, alle Chemikalien als chemisch rein von Merck-Darmstadt bezogen und vor der Verwendung nochmals aus kalifreiem Wasser in Jenaer Glasgefäßen umkristallisiert, bzw. mit kalifreiem Wasser ausgewaschen und auch die fertigen Nährflüssigkeiten in Kolben aus Jenaer Glas aufbewahrt. Es wurden, den Angaben Krzemieniewskas folgend, 3 Nährlösungen bereitet, und zwar:

Nährlösung I:

0,5 g K_2HPO_4
 0,5 g $MgSO_4$
 0,5 g $CaSO_4$
 2 g Mannit
 200 ccm H_2O

Nährlösung II:

0,5 g $MgSO_4$
 0,5 g $CaHPO_4$
 2 g Mannit
 200 ccm H_2O

Nährlösung III:

0,5 g $MgSO_4$
 0,5 g K_2HPO_4
 0,5 g $CaHPO_4$
 2 g Mannit
 200 ccm H_2O .

Je vier Kolben jeder Reihe wurden mit *Azotobacter* geimpft und mit ungeimpften Kontrollen vier Wochen lang aufbewahrt.

In den Nährlösungen I und II war kein bemerkenswertes Wachstum eingetreten, dagegen hatte sich *Azotobacter* in der Lösung 3 deut-

lich vermehrt und eine Trübung der Nährflüssigkeit hervorgebracht. Es scheint daher, daß die in dem Schreiben Krzemieniewskis empfohlenen Nährlösungen, auch die kalihaltigen, überhaupt für die *Azotobacter*-Entwicklung wenig geeignet waren. Bei den Analysen konnte daher auch keine bemerkenswerte Stickstoffmenge ermittelt werden. Es wurde gefunden:

Nährlösung I:	Nährlösung II:	Nährlösung III:
In je 200 ccm:	In je 200 ccm:	In je 200 ccm:
Kultur a: 0,81 mg N	1,76 mg N	3,20 mg N
„ b: 0,81 mg N	1,76 mg N	2,72 mg N
„ c: 1,29 mg N	1,76 mg N	3,20 mg N
„ d: 0,81 mg N	1,76 mg N	3,20 mg N
Ungeimpft: 0,21 mg N	0,21 mg N	0,21 mg N

Inzwischen war die ausführliche Publikation Krzemieniewskas erschienen, und ich konnte am 11. November 1910 eine nochmalige Wiederholung der Versuche vornehmen unter genauer Innehaltung ihrer Versuchsanordnung. Es wurde wiederum in der oben beschriebenen sorgfältigen Weise verfahren. Die Glukose wurde nach der Methode von Soxhlet aus zweimal mit Alkohol aus wässriger Lösung gefälltem Rohrzucker dargestellt, wobei Wasser und Alkohol in entsprechenden Gläsern vorher destilliert waren. Da in den reinste Glukose und Mineralsalze enthaltenden Nährlösungen die Entwicklung von *Azotobacter* auch bei den Untersuchungen Krzemieniewskas sehr schwach war, so gab sie ihnen bei weiteren Versuchen aus Erde dargestelltes Natriumhumat zu, welches die Entwicklung des *Azotobacter* bedeutend steigerte. Sie sagt bei dieser Gelegenheit: „Da die Reinigung des Humates nur durch mehrfaches Füllen mit Salzsäure erfolgen konnte, das auf diese Weise behandelte Humat aber weniger günstig auf die Entwicklung des *Azotobacter* wirkt, so mußte man von einer solchen Reinigung absehen.“

Die grundlegenden Versuche Krzemieniewskas sind nun genau nach ihren Angaben von mir wiederholt worden.

Am 11. November 1910 wurden 12 Kölbchen mit einer Nährlösung gefüllt, welche in 100 ccm Wasser enthielt:

25 mg MgSO_4 , 7 H_2O
 25 „ CaHPO_4 , 2 H_2O .
 1,35 g Glukose.

2 Kölbchen erhielten diese Nährlösung ohne weitere Zusätze, den übrigen wurden verschiedene Mengen Kali in Form von Kaliumsulfat zugefügt. Sämtliche Kölbchen wurden alsdann mit einer Reinkultur von *Azotobacter* geimpft und 19 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurde die verbrauchte Glukose¹⁾ und der Stickstoffgehalt in den Kulturen ermittelt. Gleichzeitig waren mit derselben Reinkultur 3 Kölbchen geimpft worden, welche die gewöhnliche kalihaltige Mannitlösung enthielten. Es seien zuerst die in den entsprechenden Versuchen Krzemieniewskas erhaltenen Zahlen und im Anschluß daran die von mir festgestellten mitgeteilt (s. Tab. p. 418):

Es war demnach auch in den kalifreien Nährlösungen Krzemieniewskas ein, allerdings nur sehr geringer, Glukoseverbrauch eingetreten. Hieraus muß der Schluß gezogen werden, daß entweder trotz aller Vorichtsmaßregeln minimale Spuren von Kali vorhanden waren, oder aber,

¹⁾ Krzemieniewska, a. a. O. p. 380.

Versuch von Krzemieniewska:

K_2SO_4 mg	87,2	8,72	0,872	0,0872	0,0087	—
Menge der verbrauchten Glukose in mg	160,0 170,0	157,6 150,0	182,0 185,5	170,0 171,0	144,2 150,5	87,0 77,0
Eigener Versuch:						
K_2SO_4 mg	87,2	8,72	0,872	0,087	0,0087	—
Menge der verbrauchten Glukose in mg	594,8 426,0	659,6 646,0	514,8 470,8	542,0 478,8	357,2 386,8	371,6 391,6
Gebundener Stickstoff in mg	1,04 1,04	0,98 1,04	0,98 0,98	1,04 0,98	0,80 0,80	0,80 0,98

daß *Azotobacter* auch beim Fehlen jeder Spur von Kali sich zu entwickeln vermag. Krzemieniewska will das letztere nicht zugeben, weil schon ein Zusatz von 0,0087 mg Kaliumsulfat den Verbrauch von Glukose auf das Doppelte steigerte. Weitere Zusätze bis zu 87 mg waren von nur geringem Einfluß. Im großen und ganzen war die Entwicklung bei allen Kulturen nur eine sehr schwache. Das Gleiche war bei meinen Versuchen der Fall. Trotz des sehr schwachen Wachstums und der überaus geringen Stickstoffsammlung in allen Lösungen zeigte es sich aber doch deutlich, daß nicht der Kaligehalt an sich, sondern nur die Menge des vorhandenen Kalis die *Azotobacter*-Entwicklung beeinflußt. Der Abfall im Glukoseverbrauch trat bei meinen Versuchen nicht erst beim völligen Fehlen von Kali ein, sondern schon bei der geringsten dargebotenen Kalimenge. Es war gleichgültig, ob diese kleinste Menge von 0,0087 mg Kaliumsulfat in den Nährlösungen noch vorhanden war, oder ob in ihnen Kali gänzlich fehlte. Es hat sich daher wiederholt unsere früher ausgesprochene Ansicht bestätigt, daß die *Azotobacter*-Organismen das Kali nicht unbedingt für ihre Entwicklung gebrauchen, daß jedoch die Gegenwart ausreichender Mengen von Kali das Wachstum begünstigt.

Auffallend war die überaus geringe Stickstoffsammlung in den Kulturen trotz des großen Zuckerverbrauchs. Beim Verbrauch von 1 g Traubenzucker sind nur etwa 2 mg Stickstoff assimiliert worden, während in Nährlösungen, die eine normale Entwicklung von *Azotobacter* ermöglichen 8—12 mg Stickstoff beim Verbrauch von 1000 mg Glukose gebunden werden. Die weite Spannung zwischen Stickstoffsammlung und Glukoseverbrauch dürfte auf die sehr wenig geeignete Nährlösung zurückzuführen sein.

In der gewöhnlichen stickstofffreien Mannitnährlösung waren gebunden worden:

in Kölbchen 1	5,4 mg Stickstoff pro 100 cem
" " 2	6,2 " " " "
" " 3	6,0 " " " "

In dieser Nährlösung sind demnach bedeutend höhere Stickstoffaufnahmen erfolgt, obwohl die wenig virulente Kultur es nicht zu den früher konstatierten Resultaten brachte.

Die weiteren Versuche Krzemieniewskas sind unter Zusatz

von Natriumhumat ausgeführt worden. Daß durch das rohe aus Erde dargestellte Humat den Nährlösungen Kali zugeführt wird, steht außer jedem Zweifel und wird auch von *Krzemieniewska* nicht geleugnet. Sie schließt jedoch aus einigen Versuchen, daß die bessere Entwicklung des *Azotobacter* in solchen Nährlösungen weniger auf die etwa mit dem Humat eingebrachte Verunreinigung mit Kalium, als vielmehr auf die Wirkung des Humates selbst zurückzuführen ist. Bei den Versuchen mit Natriumhumatzusatz, aber ohne Kaligaben war nach 4 Tagen der Glukoseverbrauch allerdings schon so hoch wie in dem erwähnten ersten Versuche nach 19 Tagen. „Man wird daher vermuten dürfen, daß das der Nährlösung zugesetzte Humat als Kaliquelle gedient hatte.“ Da jedoch die nach 12 Tagen in der kalifreien Humatreihe verbrauchte Zuckermenge selbst größer war, wie die beim ersten Versuch nach 19 Tagen und bei Gegenwart von Kalium zersetzte Glukose, so schließt die Verfasserin, daß nicht das mit dem Humat zugeführte Kali, sondern eben nur das Humat selbst für die Begünstigung der Stickstoffsammlung in Betracht kommt. Der höhere Glukoseverbrauch in den ohne Kalizusatz belassenen Humatkulturen läßt sich aber m. E. ebenso gut dadurch erklären, daß in dem verwendeten Natriumhumat auch Kali und zwar in besonders geeigneter Form zugegen war. Daher ist die Schlußfolgerung, daß diese Wirkung lediglich auf das Humat zurückzuführen sei, keineswegs gerechtfertigt, ebensogut könnte aus dem Ergebnis des Versuchs geschlossen werden, daß Kali unter Umständen, nämlich wenn es in besonders leicht aufnehmbarer Form vorhanden ist, die Stickstoffbindung durch *Azotobacter* stark begünstigt. Daraus folgt jedoch nicht, daß es für diesen Vorgang unbedingt erforderlich ist.

Im Februar 1911 wurde nach der von *Krzemieniewska* gegebenen Vorschrift ein Versuch unter Zugabe von Natriumhumat ausgeführt. Es wurden 12 Kolben mit einer Nährlösung gefüllt, die in je 100 ccm enthielt:

12,5 mg MgSO_4 , 7 H_2O
 25,0 „ CaHPO_4 , 2 H_2O
 1,0 ccm Natriumhumatlösung
 900 mg Glukose.

6 Kolben blieben ohne weiteren Zusatz, 6 erhielten eine Zugabe von je 25 mg Kaliumsulfat. An jedem 4. Tage wurde Stickstoff und Glukose in je zwei Kulturen mit und ohne Kaliumzusatz bestimmt. *Krzemieniewska* verwendete statt der Natriumhumatlösungen je 35 mg Humat pro 100 ccm Nährlösung. Ich bin bei der Darstellung des Humats in folgender Weise zu Werk gegangen: 1 kg eines dunklen, humosen Bodens (von dem Versuchsgute Pentkowo) wurde mit verdünnter Natronlauge eine Stunde geschüttelt, die erhaltene Lösung durch Glaswolle filtriert und mit Salzsäure angesäuert. Der Niederschlag wurde bis zur sehr schwach sauren Reaktion des Waschwassers gewaschen (dekantiert) und wieder in verdünnter Natronlauge aufgelöst. Die Lösung war tief schwarzbraun gefärbt und reagierte schwach alkalisch.

Es seien zunächst wieder die in den entsprechenden Versuchen von *Krzemieniewska* und alsdann die von mir gewonnenen Resultate nebeneinander gestellt (s. Tab. p. 420).

Die erhaltenen Zahlen stehen in einem gewissen, zunächst noch unaufgeklärten Widerspruch zu den Ergebnissen *Krzemieniewskas*. Die Anwesenheit des Kaliumsulfats blieb ohne jeden Einfluß auf die *Azotobacter*-entwicklung, was für die von uns vertretene Bedeutungslosigkeit

Versuch von Krzemieniewska:

Versuchsdauer in Tagen	25 mg K ₂ SO ₄			Kein Kaliumsalz		
	Verbrauchte Glukose	Stickstoff-Gewinn	N-Gewinn pro 1 g verbrauchte Glukose	Verbrauchte Glukose	N-Gewinn	N-Gewinn pro 1 g verbrauchte Glukose
	mg	mg		mg	mg	mg
4	9,00	15,02	16,7	90,8	1,33	14,6
	9,00	14,94	16,6	64,4	1,09	16,9
8	9,00	15,01	16,7	148,96	2,13	14,3
	9,00	15,08	16,8	120,40	1,73	14,4
12	9,00	15,08	16,8	220,0	2,53	11,5
	9,00	14,94	16,6	180,76	2,29	12,7

Eigener Versuch:

Versuchsdauer in Tagen	25 mg K ₂ SO ₄			Kein Kaliumsalz		
	Verbrauchte Glukose	N-Gewinn	N-Gewinn pro 1 g verbrauchte Glukose	Verbrauchte Glukose	N-Gewinn	N-Gewinn pro 1 g verbrauchte Glukose
	mg	mg	mg	mg	mg	mg
4	204,8	0,94	4,6	152,8	0,76	5,0
	163,2	0,72	4,4	253,6	0,94	3,7
8	148,0	0,90	6,1	309,6	0,90	2,9
	188,0	0,90	4,8	177,6	0,90	5,1
12	572,8	1,95	3,4	619,2	1,95	3,1
	568,8	1,95	3,4	531,2	1,90	3,6

des Kalis sprechen würde, wenn wir die Ansicht Krzemieniewskas gelten lassen, daß das im Natriumhumat als Verunreinigung enthaltene Kali nicht zur Ernährung des Azotobacters geeignet sei. Es ist jedoch schwer einzusehen, weshalb das als Kaliumhumat vorhandene Kali weniger gut aufgenommen werden sollte, als das in Form von Kaliumsulfat zugeführte. Da überaus kleine Kaliummengen das in der verwendeten Nährlösung erreichbare Maximum des Azotobacterwachstums ermöglichen, so dürfte der Kalibedarf auch in den ohne Kaliumsulfatzusatz belassenen Lösungen vollkommen gedeckt gewesen sein. Einen deutlichen Einfluß übte allein die Länge der Versuchsdauer aus, mit welcher Glukoseverbrauch und Stickstoffsammlung anwuchsen. Krzemieniewska scheint für diese Versuche Kulturen von viel höherer Wachstumsintensität benutzt zu haben, da schon nach 4 Tagen bei den mit Kaliumsulfat versetzten Nährlösungen sämtliche Glukose verbraucht worden war.

Die vorstehend beschriebenen Versuche bestätigen unsere früheren Resultate. Eine Entwicklung von Azotobacter und die Betätigung der Stickstoffsammlung durch diesen Organismus ist auch bei völligem Fehlen von Kaliumverbindungen möglich, durch ihre Anwesenheit wird allerdings die Intensität des Wachstums und der Stickstoffassimilation erheblich gesteigert. Auch Krzemieniewska ist es trotz größter Sorgfalt nicht gelungen, Nährlösungen herzustellen, in welchen überhaupt kein Wachstum des eingepfropften Azotobacter eintrat. Wenn man diesen Er-

gebniſſen gegenüber berückſichtigt, wie leicht es möglich iſt, kalk- und phosphorsäurefreie Nährlösungen zu bereiten, in welchen keine *Azotobacter*-Entwicklung erzielt werden kann, ſo iſt doch wohl der Schluß berechtigt, daß nicht etwa die trotz allergrößter Sorgfalt in den Nährlösungen noch vorhandenen Spuren von Kaliumverbindungen das Wachstum des *Azotobacter* ermöglichen, ſondern daß er eben auf Kalisalze nicht angewieſen iſt und ſich bei deren völligem Fehlen entwickeln kann.

Zu einer ſicheren Entſcheidung der ſtrittigen Frage ſind noch weitere Verſuche auszuführen, bei welchen vor allem Nährlösungen zu verwenden ſind, welche auch ohne Humuſzuſatz eine beſſere Entwicklung von *Azotobacter* geſtatten, als die ſehr unzuweckmäßig zuſammengeſetzten Nährlösungen *Krzemieniewskas*. Keiner der im vorhergehenden beſchriebenen Verſuche bietet eine absolute Garantie für völlige Kalifreiheit der benutzten Nährſubstrate. Wollte man annehmen, daß eine ſolche in der auf Seite 7 erwähnten ohne Kalizugabe belassenen Nährlösung *Krzemieniewskas* erreicht worden war, ſo würde das in dieſem Subſtrat erfolgte Wachstum, trotz ſeiner Geringfügigkeit, die Richtigkeit unſeres Standpunktes beweisen.

Nachdruck verboten.

Eine physiologische Studie über die nitratreduzierenden Bakterien. .

[Aus dem landwirthſchaftlich-bakteriologiſchen Institut der Univerſität Göttingen.]

Von Edwin Broun Fred.

Mit 6 Tafeln und 9 Kurven im Text.

In den letzten Jahren haben ſich zahlreiche Bakteriologen mit Unterſuchungen über Nitrat reduzierende Bakterien beſchäftigt, wobei ſie ſich mit geringer Ausnahme in ihren Forſchungen auf die praktiſche Bedeutung der Denitrifikation für die Landwirthſchaft beſchränkt haben. Nur wenige Forſcher haben ſich mit der physiologiſchen Seite dieſer Frage befaßt¹⁾. Ihre Reſultate ergaben manche ſehr intereſſante Thatſachen bezüglich der Lebensprozeſſe der Nitrat reduzierenden Bakterien, doch iſt das Problem noch immer nicht zur Genüge gelöſt. Der Zweck der vorliegenden Arbeit iſt, einige der physiologiſchen Vorgänge, die ſich bei der Nitrat-Reduktion abſpielen, genauer zu unterſuchen und ſie, wenn möglich, durch irgendwelche quantitative Methoden zu meſſen.

In der vorliegenden Arbeit handelt es ſich darum, den physiologiſchen Prozeß in bezug auf den zeitlichen Verlauf der Nitrat- und Farbstoff-Reduk-

¹⁾ Dehérain, Compt. rend. Paris. T. 124. 1897. p. 270.

Künemann, Landw. Vers.-Stat. Bd. 50. 1898. p. 86.

Lemmermann, Habilit. Schrift. Jena 1900.

Maassen, A., Arbeit. a. d. Kaiſerl. Geſundh.-Amt. Bd. 18. 1902. p. 21.

Salzmann, [Diss. phil.] Königsberg 1901.

Severin, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 1. 1895. p. 162; Bd. 3. 1897. p. 562.

Weißenberg, Arch. f. Hyg. Bd. 30. 1897. p. 279.

Wolf, K., Hyg. Rundſchau. Bd. 9. 1899. p. 544.

tion einerseits und das Verhältnis beider zu einander andererseits und die Abhängigkeit dieser Reduktionsvorgänge von verschiedenen Einflüssen, wie Reaktion, Energiequellen, Gegenwart von Nitrit usw. eingehend zu untersuchen.

Versuchs anordnung.

Die Versuche wurden mit einer Serie von Probierröhrchen und Flaschenkulturen angestellt, wobei die folgenden vier Formen von denitrifizierenden Bakterien verwendet wurden: *B. fluorescens liquefaciens*, *B. pyocyaneus*, *B. Hartlebi* (H. Jensen) von Král bezogen und *B. denitrificans* in Amerika von mir aus Pferdemit isoliert. Das Nährmedium bei allen diesen Experimenten war, wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt, eine modifizierte Form der bekannten Giltayschen Lösung.

Zusammensetzung der Nährmedien.

No. 1.		No. 2.	
Natriumnitrat	2,0 g	Dasselbe + 2,0 g Zucker.	
Magnesiumsulfat	2,0 g		
Dikaliumphosphat	2,0 g		
Calciumchlorid	0,2 g		
Zitronensäure	5,0 g		
Natriumkarbonat	4,25 g		
Destill. Wasser	1000,0 ccm		
No. 3.		No. 4.	
Kaliumnitrat	2,0 g	Kaliumnitrat	2,0 g
Magnesiumsulfat	2,0 g	Magnesiumsulfat	2,0 g
Dikaliumphosphat	0,2 g	Dikaliumphosphat	0,2 g
Calciumchlorid	0,2 g	Calciumchlorid	0,2 g
Zitronensäure	5,0 g	Dextrose	10,0 g
Natriumkarbonat	4,25 g	Destill. Wasser	1000,0 ccm.
Destill. Wasser	1000,0 ccm.		

Das Titrieren geschah mit Methylrot als Indikator. Die Nitratbestimmungen wurden mittels Kolorimeter von Zeit zu Zeit vorgenommen nach der in Bull. 31 des Departement of Agriculture U. S. A. angegebenen Beschreibung: Man läßt 50 cc oder eine andere beliebig große Menge, die von dem vorhandenen Nitratgehalt abhängt, in einer Porzellanschale über einem Wasser- oder Dampfbad bis zur Trockenheit verdunsten; darnach entfernt man die Schale, rührt nach Zugabe von 1 cc Phenoldisulpho-Säure sorgfältig um und läßt ca. 10 Minuten stehen, darnach verdünnt man mit ca. 15 cc Wasser und macht alkalisch mit Ammoniak, wobei sich, wenn die Lösung alkalisch geworden ist, eine gelbe Farbe zeigt. Darauf wird die Lösung auf 50 oder 100 cc verdünnt und mit der kolorimetrischen Probelösung verglichen. Bei Vorhandensein von großen Mengen von Chloriden ist die Nitratbestimmung gehindert und ist erst nach Entfernung derselben zuverlässig. Diese Methode hat den Vorzug, rasch und leicht ausführbar und bei Lösungen von bekannter Zusammensetzung ziemlich genau zu sein. Außerdem hat sie den Vorteil, durch die Anwesenheit großer Nitritmengen nicht merklich beeinflußt zu werden. Die Schlösingsche, die Nitron- oder Eisen und Zink-Methode sind unzweifelhaft genauer, doch wurde wegen der Zeit, die diese drei Methoden erfordern, das Kolorimeter gewählt, um stündlich die Nitrat-Reduktion in den denitrifizierenden Kulturen untersuchen zu können.

Tabelle I.

Die Wirkung der Gegenwart von Natriumkarbonat in steigenden Mengen auf Nitrat reduzierende Bakterien.

Nährlösung No. I. *B. fluorescens liqu.*

No.	mg zugesetzt auf 100 g Nährlösung		mg Nitrat nach verschiedenen Zeiten Die Anfangsmenge = 100 gesetzt						Reaktion ccm $\frac{1}{10}$ N.H ₂ SO ₄	
	NaNO ₃	Na ₂ CO ₃	Anfang	Nach 20 St.	Nach 40 St.	Nach 50 St.	Nach 72 St.	Nach 80 St.	Anfang	Ende
1	200	Kontroll	100	85	70	45	20	0,0	0,0	55
2	200	50	100	85	60	35	10	0,0	10	60
3	200	100	100	80	30	0,0	0,0	0,0	20	75
4	200	200	100	84	40	10	0,0	0,0	40	100
5	200	300	100	95	70	60	45	35	60	118
6	200	400	100	100	100	100	85	80		
7	200	500	100	100	100	100	100	100		

Das Verhalten der nitratreduzierenden Bakterienarten bei Gegenwart von Natriumkarbonat und freier Zitronensäure.

Der Einfluß von freier Zitronensäure oder überschüssigem Natriumkarbonat auf das Wachstum unserer vier nitratreduzierenden Bakterienarten war außerordentlich deutlich. Bei der geringsten Spur von freier Zitronensäure entwickeln sie sich trotz sehr günstiger Ernährung nicht oder sehr, sehr langsam. In schwach alkalischen Lösungen gedeihen diese Bakterienformen am besten und die Nitratreduktion geht sehr rasch vor sich. Versuch 1 zeigt den Verlauf der Nitratzersetzung bei Zugabe steigender Mengen von Natriumkarbonat. Geimpft wurde, wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt, mit einer einer 24 Stunden alten Fleischbouillon-Kultur entnommenen Öse. Für jede Kultur wurden 200 cc Nährstoff in Erlenmeyerschen Flaschen verwendet und diese wurden bei 30° C im Brutzimmer belassen. Der Einfluß von Alkali auf die Geschwindigkeit der Nitratzersetzung ergibt sich ganz deutlich aus den Resultaten dieses Versuchs. Bei 0,1—0,2 Proz.¹⁾ wasserfreiem kohlen-sauren Natrium wird das Nitrat durch *B. fluorescens* am schnellsten zersetzt. Ähnliche Versuche mit *B. pyocyaneus* ergaben fast die gleichen Resultate. Bei Mengen von mehr als 0,3 Proz. Natriumkarbonat war die Denitrifikation stark verzögert und bei 0,5 Proz. hörte alles Wachstum auf. Diese Versuche beweisen einwandsfrei die große Empfindlichkeit der denitrifizierenden Bakterien gegen Alkali; andere Versuche zeigten mir, daß die denitrifizierenden Bakterien bei Gegenwart von freier Zitronensäure überhaupt nicht wachsen. Salzmänn hat über diesen Gegenstand qualitative Untersuchungen angestellt und gelangte dabei zu fast demselben Ergebnis.

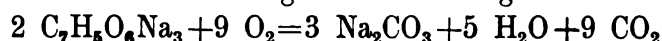
Betrachten wir nun die Reaktion der Nährlösung vor und nach der Gärung, so wird man überrascht von der mit der Nitratzersetzung einhergehenden großen Zunahme der Alkalinität. Das durchschnittliche Anwachsen von Alkali für die verschiedenen denitrifizierenden Arten betrug ausgedrückt in $\frac{1}{10}$ n H₂SO₄, ungefähr 50—60 cc auf 100 cc Nährlösung, oder als Natriumkarbonat

¹⁾ Nach anderen von mir ausgeführten Versuchen.

betrachtet ca. 0,27—0,32 g Na_2CO_3 . Als Natriumkarbonat gerechnet ist diese Alkalibildung mehr als doppelt so groß als die Menge, die sich bilden könnte, wenn alles Natrium des Natrium-Nitrats in Natriumkarbonat umgesetzt würde. Die ursprüngliche Lösung enthielt 0,2 Proz. NaNO_3 , bei Umwandlung desselben in Na_2CO_3 ergeben sich 0,124 g Na_2CO_3 , es wurden aber, wie oben gezeigt, 0,27 oder 0,32 g, oder vielmehr eine äquivalente Menge von Alkali in irgend einer Form beobachtet. Diese Analysen wurden mit den Medien 1 und 3 für viele Kulturen gemacht und jedesmal wurden dieselben Resultate erhalten. Daraus geht klar hervor, daß die Zunahme der Alkalinität bei der Denitrifikation nicht nur eine Folge der bei der Zersetzung der Nitrat-Moleküle vor sich gehenden Bildung von kohlensaurem Alkali ist, sondern daß auch das Zitrat-Molekül eine Rolle bei dem Vorgang spielen muß. Zur Untersuchung dieser Frage wurde das Nährmedium 4 benutzt, die Zitronensäure wurde also durch Dextrose ersetzt und das Natrium-Karbonat weggelassen. Die Wirkung war folgende: Zu Anfang brauchten 100 cc Nährlösung 1 ccm $\frac{1}{10}$ n H_2SO_4 zur Neutralisation; nach der Zersetzung des KNO_3 brauchten

100 cc der Kultur 8 cc $\frac{1}{10}$ n H_2SO_4 , eine Zunahme an Alkali, die 7 cc $\frac{1}{10}$ n H_2SO_4 oder 0,0486 g Kalium-Karbonat entspricht. Theoretisch beträgt die aus KNO_3 (0,2 Proz.) entwickelte Karbonatmenge 0,1366 g K_2CO_3 , oder mit anderen Worten, es fand sich tatsächlich nur ungefähr ein Drittel der Alkalimenge, welche als kohlensaures Alkali aus dem Nitrat entstehen kann. Weil aus Dextrose durch die denitrifizierenden Bakterien Säure erzeugt wird, hat wahrscheinlich deren Säure einen Teil des entstehenden kohlensauren Alkalis abgesättigt, sodaß deshalb eine zu geringe Alkalinitätszunahme beobachtet wird, so daß der Zweck dieser Versuche nicht erreicht wurde.

Da aber, wie oben bemerkt, bei Gegenwart von Zitronensäure als Energiequelle statt Dextrose mehr Alkali beobachtet wird wie aus dem Nitrat entstehen kann, so bilden die Bakterien offenbar auch aus dem Zitrat kohlensaures Alkali. Wahrscheinlich nahmen die Bakterien Kohlenstoff aus dem zitronensauren Natrium heraus und als Endprodukte entstanden Kohlensäure, Wasser und Natrium-Karbonat nach der folgenden Gleichung:



Da der Sauerstoff aus dem Nitrat durch die denitrifizierenden Bakterien entnommen wird und (bei völliger Denitrifikation) Stickstoff in die Luft entweicht, bindet sich die freie Kohlensäure aus der Energiequelle an die Base und bildet kohlensaures Natrium, wodurch alkalische Reaktion entsteht. Wir haben also bei Zitrat als Energiequelle zwei Ursachen der Alkalinität.

Die Bildung von Kohlensäure:

Hierzu wurde eine Reihe von Experimenten angestellt, bei denen während der Nitraterstörung Bestimmungen der freien und gebundenen CO_2 nach der Trocken-Methode gemacht wurden. Die Flaschen wurden unmittelbar nach dem Impfen mit einem Kohlensäure-Bestimmungsapparat verbunden und wurden so belassen, bis alles NO_3 vernichtet war. Darauf wurden sie erhitzt, um die freie Kohlensäure zu entfernen; dieselbe wurde mittels eines CO_2 -freien Luftstromes über Natronkalk in U-röhren geleitet. Nach Bestimmung der freien CO_2 wurde dieselbe Operation wiederholt, nur daß die Kultur mit einem Überschuß von schwacher Salzsäure behandelt wurde. Die bei

dieser letzteren Behandlung gefundene Kohlensäure wird als gebundene Kohlensäure betrachtet.

Tabelle 2. *B. pyocyaneus*.

Nährlösung	mg CO ₂ pro 100 g Lösung							Gesamt-C der Kohlen- stoffquelle als CO ₂ nach der Gärung gefunden
	Frei		Gebunden		Zunahme		Ge- samt- zu- nahme	
	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Frei	Geb.		
Nr. 3 Zittr.-Säure	0,0	54,7	1,5	323,4	54,7	321,9	376,6	102,5
Nr. 4 Dextrose	0,0	161,6	0,0	13,8	161,6	13,8	175,4	47,4

Ein Blick auf die Resultate von Versuch 2 zeigt den bedeutenden Unterschied in Erzeugung von Kohlensäure zwischen Zitronensäure und Dextrose als Kohlenstoffquellen, indem die erstere mehr als doppelt soviel CO₂ produziert. Nährlösung 3 mit Zitronensäure bildet im Gegensatz zu der Dextrose-Nährlösung 4 einen Überschuß an gebundener Kohlensäure, während die Dextrose mehr freie CO₂ als gebundene erzeugt. Dieser Unterschied ist höchstwahrscheinlich auf die große Menge von Natrium, das im zitronensauren Medium enthalten ist, zurückzuführen und darauf, daß die Bakterien aus Dextrose Säuren bilden, die CO₂ aus dem Karbonat, welches aus dem Nitrat entstanden ist, in Freiheit setzen. Bei Zitronensäure als Kohlenstoffquelle war auch nach der Nitratzerstörung noch eine merkliche Menge dieser Säure vorhanden und da die gegenwärtigen Methoden zur quantitativen Bestimmung von Zitronensäure schwierig und nicht sehr genau sind, wurde die Kohlenstoff-Bilanz für eine Nährlösung, die nicht Zitronensäure, sondern Dextrose als Kohlenstoffquelle enthielt, berechnet.

Die Beziehung zwischen der Menge der zersetzten Kohlehydrate und der gebildeten Kohlensäure läßt sich am besten aus dem Fall des Dextrose-Mediums Nr. 4 ersehen. Hier wurden Bestimmungen der Dextrose vor und nach der Nitratzersetzung, verbunden mit Kohlensäure-Bestimmungen gemacht.

Kohlenstoff-Bilanz.
Zwei Parallel-Bestimmungen. Dextrose. *B. pyocyaneus*.

Nr.	mg Dextrose pro 100 g Nährlösung			mg Kohlenstoff als Dextrose pro 100 g Nährlösung		
	Berechnet	Anfangs	Nach Gärung	Anfangs	Nach Gärung	Verlust
1	1000	990	690	395	275,2	119,8
2	1000	994	697,2	396,6	278,1	118,5
Durchschnittlich		992	693,6	395,8	276,6	119,2

Durchschnittlich ergaben die aus mehreren Parallel-Bestimmungen erhaltenen Resultate bei 1 Proz. Dextrose (Nährlösung Nr. 4) mit *B. pyocyaneus* geimpft folgendes: Bei der Gärung wurde in 100 ccm Nährlösung ungefähr 120 mg C als Dextrose vernichtet, 47,7 C als CO₂ gebildet, folglich muß die Differenz von 72,3 mg C zur Bildung von Eiweiß und organischen Säuren verbraucht worden sein.

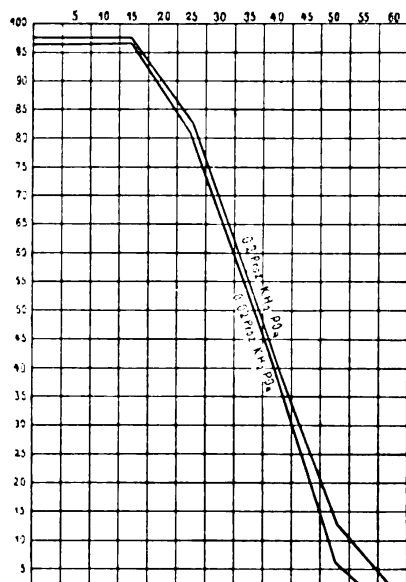
Der Einfluß von Phosphorsäure auf die denitrifizierenden Bakterien.

Zur weiteren Aufklärung der Bildung von kohlensaurem Alkali bei der Denitrifikation wurde versucht, ob auch aus dem Phosphat der Nährlösung die Base stammen kann, die die entstehende CO_2 bindet. Deshalb wurden Versuche mit verschiedenen Mengen Phosphat gemacht.

Zu diesem Zweck wurden Kulturen mit Giltay'scher Lösung und 0,02–0,2 Proz. KH_2PO_4 geimpft und diesen von Zeit zu Zeit Proben für periodische Nitrat-Analysen entnommen.

Tabelle III. S. auch Kurve I. *B. pyocyaneus*.

Nr.	mg $\text{H}_2\text{PO}_4\text{K}$ zugesetzt pro 100 ccm Nährlösung	Milligramm Nitrat nach verschiedenen Zeiten					
		Anfang	15 Std.	25 Std.	40 Std.	48 Std.	65 Std.
1	200	100	100	82	30	8,0	0,0
2	100	100	100	80	32	6,5	0,0
3	50	100	100	80	31	5,0	0,0
4	20	100	100	78	32	6,5	0,0



Kurve 1.

B. pyocyaneus setzt also das gebotene Nitrat ebenso schnell um, gleichgültig ob ihm 0,02 oder 0,2 Proz. KH_2PO_4 zur Verfügung steht.

Mit *B. fluorescens liqu.* wiederholt ergab dieser Versuch dasselbe Resultat. Nach diesen Zahlen zu urteilen scheint von primärem Phosphat nur wenig für die nitratumsetzenden Bakterien nötig zu sein. Dergewöhnliche Gehalt der Giltay'schen Lösung an Phosphat (0,2 Proz.) ist offenbar zehnmal so groß, als er für den Denitrifikationsprozeß nötig ist. Durch sorgfältiges Titrieren der Alkalinität ergab sich weiter, daß bei Verminderung der Phosphatmenge um das zehnfache kein Unterschied in der Menge des gebildeten Karbonates nachzuweisen war. Daraus folgt, daß die Base aus der kleinen Menge des durch die denitrifizierenden Bakterien zur Ernährung ver-

wendeten Phosphats für die Karbonat-Bildung wenig in Betracht kommt.

Der Einfluß von Nitrit auf das Wachstum denitrifizierender Bakterien.

Daß die Zersetzung von Nitraten verbunden ist mit einer Bildung von Nitriten als Nebenprodukt, wird bei allen Nitrat reduzierenden Bakterienarten außerordentlich häufig beobachtet. Welchen Einfluß Nitrite allein oder in Verbindung mit Nitraten auf den Lebensprozeß dieser Mikroorganismen ausüben, ist aber nicht genau bekannt. Zur Untersuchung dieses Einflusses wurde Versuch Nr. 4 angestellt.

B. pyocyaneus Nährlösung Nr. 1 ohne Nitrat mit 0,2 Proz. KNO_3 . Nach 24 Stunden tritt Wachstum ein, nach 2 Tagen eine rapide Schaum-

bildung verbunden mit wundervoller Pigmentbildung; nach drei Tagen ist alle NO_2 zersetzt.

B. pyocyaneus Nährlösung Nr. 1 ohne Nitrat mit 0,5 Proz. KNO_3 . Nach 72 Stunden geringes Wachstum, später rapide Gärung, viel Schaumbildung und nach Verlauf von 5 Tagen ist alle NO_2 zersetzt. Bei größeren Mengen von NO_2 war das Wachstum verlangsamt und die Reduktion ging sehr langsam vor sich.

Bei Zugabe von freier NO_2 fand kein Wachstum statt, bis alle Säure neutralisiert war. Aus diesem Versuch geht hervor, daß NO_2 bei Abwesenheit von Nitraten zersetzt wird wobei die Umsetzung im Anfang langsamer vor sich geht, später aber sogar rascher als bei Vorhandensein von NO_3 . Die Schaum- und Pigmentbildung ist stärker als bei NO_3 allein. In Mengen von nicht mehr als 0,5 Proz. wirkt NO_2 nicht giftig auf diese Mikroorganismen.

Der Einfluß von Nitrit und Nitrat auf das Wachstum denitrifizierender Bakterien.

Weiter wurde untersucht, ob die Gegenwart von Nitrit die Geschwindigkeit der Nitratreduktion beeinflußt. Dazu wurden die in Tabelle IV a verzeichneten Versuche angestellt; sie zeigen, daß mit steigender Nitritmenge die Nitratreduktion verlangsamt wird, während bei 2 Proz. Nitrit gar kein Nitrat mehr reduziert wird. In den Fällen, wo das Nitrat ganz zerstört war, war auch kein Nitrit mehr vorhanden, dieses also auch völlig reduziert.

Tabelle IVa. *B. pyocyaneus*.

Nr.	mg zugesetzt auf 100 g Nährlösung		Milligramm NO_3 nach verschiedenen Zeiten vorhanden Die Anfangsmenge = 100 gesetzt				
	NaNO_3	KNO_3	Anfangs	Nach 30 St.	Nach 45 St.	Nach 60 St.	Nach 70 St.
1	200	Kontroll	100	65	35	5	0,0
2	200	100	100	75	45	20	0,0
3	200	200	100	80	65	50	40
4	200	500	100	85	70	60	45
5	200	1000	100	100	90	80	70
6	200	2000	100	100	100	100	100

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß die Reduktionsfähigkeit für NaNO_3 bei den besprochenen nitratzerstörenden Bakterien durch kleine Mengen von NO_2 nicht beträchtlich beeinflußt wird, bei großen Mengen von KNO_3 aber gehindert wird. Die Charakteristika der Kulturen waren verschieden: in den Flaschen Nr. 2 und 3 bildete sich wenige Stunden nach der Impfung ein tief blaugrünes Pigment, während die Kontrollkulturen nie dieselbe Farbenstärke erlangten. Daraus zeigt sich, daß Nitrite in kleinen Mengen zur Pigmentbildung beitragen.

Der zeitliche Verlauf der Nitrat-Reduktion.

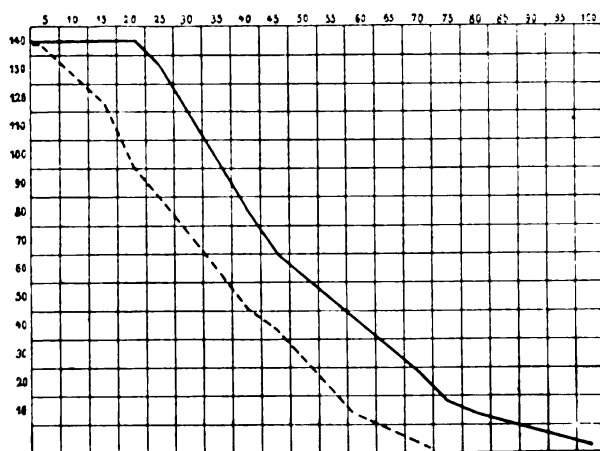
Um den zeitlichen Verlauf der Nitratreduktion festzustellen wurde Giltaysche Lösung mit *B. pyocyaneus* und *fluorescens* geimpft und die Nitratzersetzung mit dem in Kurventafel 2 und 3 und Tabelle V verzeichneten Resultat kolorimetrisch verfolgt. Die Form der Kurve der Nitratzersetzung bei schwacher Impfung zeigt, daß zunächst dieser Prozeß sehr langsam verläuft, dann aber plötzlich sehr lebhaft und erst am

Schluß wieder vielleicht durch Zunahme der Alkalinität etwas langsamer wird. Zur Erklärung des anfänglichen Inkubationsstadiums ist wohl anzunehmen, daß die geimpften Bakterien erst sich bis zu einem gewissen Grade vermehren müssen, bis die Nitratumsetzung merklich wird, daß dann aber dieser Prozeß sehr schnell verläuft. Ist diese Erklärung richtig, so muß durch starke Impfung das Inkubationsstadium verkürzt werden. Die im Folgenden (Kurventafel 2 u. 3, Tabelle V) beschriebenen Versuche mit starker und schwacher Impfung zeigen, daß dies tatsächlich der Fall und unsere Erklärung der Kurvengestalt also richtig ist.

Tabelle V.

Die Reduktions-Kurven für *B. pyocyaneus* und *B. fluorescens liqu.* in Nährlösung Nr I.

Stunden nach Impfung	Milligramm Nitrat pro 100 g Nährlösung			
	<i>B. pyocyaneus</i>		<i>B. fluorescens liqu.</i>	
	Schwache Aussaat	Starke Aussaat	Schwache Aussaat	Starke Aussaat
Anfangs	145	145	145	145
15	145	118	145	122
20	145	95,5	145	100
25	140	72,8	140	75
40	72	48,0	76	53
45	64	40	65	45
55	45	25	55	38
70	25	0,0	45	24
75	14,5		35	20
80	10,0		25	10
100	0,0		15	8
105			10	4
120			8	0,0
125			0,0	

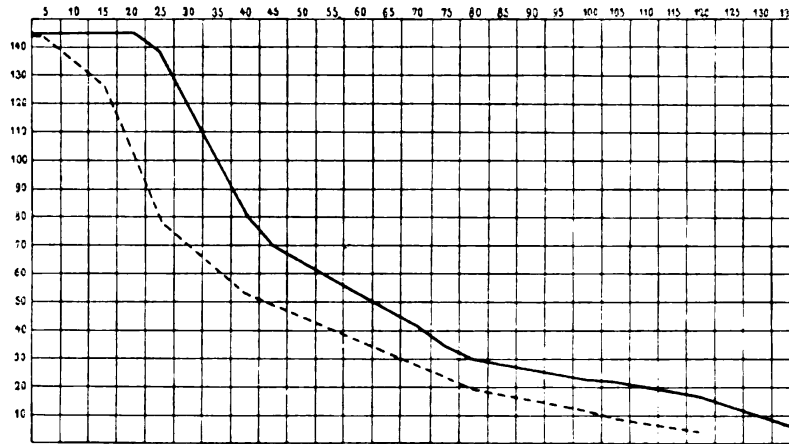


Kurve 2.

Zu diesem Zweck wurde Nährlösung Nr. 1 und 2 in 500 cc Flaschen benutzt. Nach der Sterilisation wurden die Kulturen aus einer 24 Stunden alten Bouillon-Kultur wie folgt geimpft: 1. schwache Impfung mit der Öse einer Platinnadel, 2. starke Impfung mit 10 cc. Die Kulturen wurden darauf bei 30° C ins Brutzimmer gebracht und von Zeit zu Zeit wurden periodische Nitratbestimmungen vorgenommen.

Tabelle 5 zeigt die bei starker und schwacher Impfung erhaltenen Resultate. Aus den Resultaten dieser Tabelle läßt sich der genaue Verlauf der Denitrifikation ersehen. Bei der Ösen-Impfung geht die Reduktion zuerst sehr langsam vor sich, ist bis zur 20. bis 25. Stunde gar nicht merkbar, verläuft dann sehr rasch, und in der 70.—100. Stunde je nach der Art der denitrifizierenden Organismen, die benutzt wurde, läßt sich eine deutliche Verzögerung

beobachten. Bei starker Impfung (10 cc) beginnt die Zersetzung viel früher, aber die entstehende Kurve ist fast die gleiche. Siehe Kurven 2 und 3. Hier ist die Dauer und Art der Nitrat-Reduktion für *B. pyocyaneus* und *B. fluorescens liqu.* ganz deutlich zu ersehen. Ähnliche Versuche mit KNO_3 statt NaNO_3 bestätigen nur die oben erwähnten Resultate. Die Ergebnisse dieser beiden Impfstärken waren schließlich ganz die gleichen, die Nitratzerstörung beginnt nämlich nach einer kurzen Frist, die zur Vermehrung der Bakterien nötig ist und verläuft dann sehr heftig, bis fast alles



Kurve 3.

NO_3 vernichtet ist, dann zeigt sich eine schwach verzögernde Wirkung. Diese Hemmung ist wahrscheinlich auf die Zunahme von Alkali und die Bildung von Nitriten zurückzuführen. Der hemmende Einfluß größerer Alkalimengen ist schon in Versuch I bewiesen. Zur Feststellung des Nitrit-Einflusses sind periodische Nitrat- und Nitritbestimmungen erforderlich, um die Nitrat-reduktionskurve zu vervollständigen.

Für einen solchen Versuch wurde Nährlösung Nr. 1, die mit *B. pyocyaneus* und *B. fluorescens liquif.* geimpft war, benutzt und periodische Bestimmungen der NO_2 mit dem Kolorimeter nach Ilosvay gemacht. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle 6 angegeben.

Tabelle VI.
Nitritbildung bei Zerstörung des Natrium-Nitrats.
B. fluorescens liquif.

Zeit der Bestimmung nach Beginn der Versuchs	Milligramm Nitrit pro 100 ccm der Nährlösung		
	Impfung 10 ccm	Impfung 1 ccm	Impfung Oese
Nach 20 Stunden	0,33	0,22	0,06
„ 30 „	0,23	0,26	0,20
„ 40 „	0,21	0,30	0,40
„ 55 „	0,0	0,0	0,0
Kontrolle nicht geimpft	0,04	0,04	0,04

B. pyocyaneus.

Zeit der Bestimmung nach Beginn des Versuches	Milligramm Nitrit pro 100 ccm der Nährlösung	
	Impfung 1 ccm	Impfung $\frac{1}{10}$ ccm
Nach 20 Stunden	0,26	0,12
„ 30 „	0,20	0,31
„ 45 „	0,12	0,13
„ 50 „	0,00	0,00
Kontrolle nicht geimpft	0,04	0,04

Aus diesem Resultat geht klar hervor, daß NO_2 Bildung bald nach der ersten Periode, die für die Vermehrung der Bakterien nötig ist, stattfindet; nach 20–30 Stunden ist das Maximum der NO_2 -Bildung erreicht. Von jetzt bis zur vollständigen Zerstörung des Nitrats ist keine große Menge von salpetriger Säure vorhanden. Es ist mehr als wahrscheinlich, daß NO_2 nur eins der vielen Zwischenprodukte der NO_3 Reduktion durch Bakterien ist und daß die salpetrige Säure bald in freien N umgewandelt wird. Weil diese Umwandlung so schnell vor sich geht, können im besten Falle immer nur kleine Mengen von NO_2 gefunden werden und diese werden nach Versuch IV und IVa kaum hemmend wirken. Siehe auch die Angaben über Nitritbildung in Versuch 8 und 10.

Das Verhalten der Nitrat-reduzierenden Bakterien gegen Natrium-Nitrat, Kalium-Nitrat, Calcium-Nitrat und Ammonium-Nitrat.

Zu diesem Zweck wurde Nährlösung No. 1 benutzt und die oben genannten Salze (s. Tabelle 7). Es sollte untersucht werden, ob die Base,

Tabelle VII.

Der Reduktionsverlauf bei verschiedenen salpetersauren Salzen.

Impfung 1 ccm von Bouillon-Kultur B. pyocyaneus.

No.	mg NO_3 Salz pro 100 g Nährlösung	mg NO_3 nach verschiedenen Zeiten pro 100 g Nährlösung Die Anfangsmenge = 100 gesetzt					Reaktion ccm $\frac{1}{10}$ N H_2SO_4	
		Anfang	20 St.	30 St.	45 St.	60 St.	Anfang	Ende
1	NaNO_3 200	100	90	65	15	0,0	40	106
2	KNO_3 237,5	100	90	60	12	0,0	40	108
3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 278	100	88	60	7	0,0	40	100
4	NH_4NO_3 188,4	100	90	65	12	0,0	40	104

mit der die Salpetersäure verbunden ist, einen Einfluß auf den Gang der Salpetersäurereduktion hat. Das Gewicht der verschiedenen salpetersauren Salze war so berechnet, daß jeder Kultur genau die gleiche Menge von NO_3 zugegeben wurde. Nach dem Sterilisieren und dem Impfen wurden periodische Nitratbestimmungen wie in den vorangegangenen Versuchen vorgenommen. Das Ergebnis war bei Benutzung der oben angeführten Salze NaNO_3 , KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und NH_4NO_3 in allen Fällen fast das gleiche. Die Reduktion verlief bei all diesen vier Salzen ziemlich gleich und bei dem

Titrieren nach der Nitratzersetzung ergab sich kein merklicher Unterschied in dem Verhalten der verschiedenen Basen bezüglich der Alkalibildung. Die Base, an die die Salpetersäure gebunden ist, übt auf den Verlauf der Salpetersäureumsetzung also keinen Einfluß.

Das Verhalten der denitrifizierenden Bakterien gegen verschiedene Farbstoffe.

Der Zweck dieser Versuche bestand darin, das Verhalten der nitratreduzierenden Bakterien zu reduzierbaren Farbstoffen und den zeitlichen Verlauf auch dieser Reduktion im Vergleich zur Nitratreduktion zu untersuchen. Bei all diesen Versuchen wurde, wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt, Nährlösung No. 1 verwendet und zwar in 100 ccm fassende Flaschen oder in kleineren Mengen in Probierröhrchen eingefüllt. Das Impfen geschah bei all diesen Versuchen mittels einer Platinöse. Vielfach hat man die Wirkung reduzierender Bakterien durch Zusatz reduzierbarer Farbstoffe zu den Kulturen bereits demonstriert. Ich habe dieses Mittel zur Untersuchung des Denitrifikationsvorganges auch benutzt. Hierbei spielt die Säure- und Alkalibildung auch wesentlich mit hinein, wie man sehen wird.

Die eigentümliche Erscheinung der Entfärbung durch Reduktion findet sich nicht nur bei Methylenblau, sondern auch bei vielen anderen Farbstoffen, einige werden viel leichter als andere reduziert. Dieser Umstand ist von vielen Forschern beobachtet und sowohl für flüssige wie für feste Medien zur Charakterisierung gewisser Bakteriengruppen verwendet worden. P é j u und R a j a t fanden folgendes:

- 1) Karmin, Fuchsin, Hämatein, Hämatoxylin, Cochenille, Azurblau und Malachitgrün werden durch Bakterienkolonien auf Agar nicht angegriffen.
- 2) Eosin, Methylenblau, Neutralrot, Mercks Rot, Pikrinsäure, Helianthin werden auf Agar durch Bakterienwachstum verfärbt.
- 3) Methylgrün, Gentianaviolett, Magenta werden durch Bakterien entfärbt.

a) Versuche mit Phenolphthalein.

Den Probierröhrchen und kleinen 100 ccm-Flaschenkulturen wurde gerade soviel von dieser Substanz zugegeben, daß sie eine dunkelrosa Färbung annahmen. Nach dem Sterilisieren, bei welchem Prozeß die Lösung eine dunklere rote Farbe erlangte, wurden die einzelnen Flaschen zu Paaren angeordnet, geimpft und in einer von jedem Paar wurde die Flüssigkeit mit sterilem, flüssigen Paraffin übergossen. Die Anordnung läßt sich am besten aus Versuch 8 und 8a ersehen. Periodische Nitrat- und Nitritbestimmungen wurden mit Diphenylamin und T r o m m s d o r f f s Reagenz ausgeführt. Zugleich wurde der Wechsel der Phenolphthaleinfärbung beobachtet und letztere, bis sie konstant blieb, verzeichnet. Aus dem Versuch erkennt man deutlich, daß sich die vier verschiedenen Arten von denitrifizierenden Bakterien gegen Phenolphthalein genau gleich verhalten, wenn auch die Geschwindigkeit, mit der die Veränderung vor sich geht, bei jeder Art eine andere ist. Der Verlauf des Farbenwechsels ist folgender (s. Tafel 1): Zuerst beginnt die tiefrote Farbe zu verblassen, wird blaßrot und farblos. Dies hängt mit der Bakterienvermehrung zusammen; das Stadium der Farblosigkeit wird ungefähr zur Zeit, in der die Gärung ihren Höhepunkt erreicht, beobachtet. Ist diese Zeit der rapiden Vermehrung vorüber, so gewinnen die der Luft zugänglichen Phenolphthaleinkulturen allmählich ihre

Tabelle 8. Phenolphthalein.

	Tage alt	2		4		6		8		10	
		Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃
1	B. Hartlebi	Rot	—	+	—	+	+	Farblos	—	Rot	—
2	B. pyocyaneus	Blau	++	++	—	—	—	Blabrot	—	Rot	—
3	B. fluorescens liquefaciens	Blaugrün	++	++	++	++	++	Blabrot	—	Rot	—
4	B. denitrificans	Farblos	++	++	++	++	++	Rot	++	Rot	++

Tabelle 8a. Phenolphthalein.

	Tage alt	Anfang		2		4		6		8		10	
		Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃	Farbe	NO ₂ NO ₃
1	B. Hartlebi	Rot	++	Rot	—	Rot	++	Rot	—	Farblos	—	Rot	—
1'	B. Hartlebi Paraffin	Rot	++	Rot	—	Blabrot	++	Farblos	—	Farblos	—	Farblos	—
2	B. pyocyaneus	Rot	++	Blau	++	Blau	++	Blau	—	Farblos	—	Rot	—
2'	B. pyocyaneus Paraffin	Rot	++	Blau	++	Blabrot	++	Farblos	—	Farblos	—	Farblos	—
3	B. fluorescens	Rot	++	Blaugrün	++	Blaugrün	++	Farblos	—	Farblos	—	Farblos	—
3'	B. fluorescens Paraffin	Rot	++	Blaugrün	++	Blabrot	++	Farblos	—	Farblos	—	Farblos	—
4	B. denitrificans	Rot	++	Farblos	++	Farblos	++	Farblos	++	Farblos	++	Farblos	—
4'	B. denitrificans Paraffin	Rot	++	Farblos	++	Farblos	++	Farblos	++	Farblos	++	Farblos	—

ursprüngliche Farbe wieder, wobei sich dieselbe von der Oberfläche nach unten hin verbreitet, während die mit Paraffin verschlossenen Kulturen farblos bleiben. Daß das Phenolphthalein von den denitrifizierenden Bakterien nicht zerstört worden war, folgt daraus, daß, wenn das Paraffin entfernt oder die Flüssigkeit erhitzt wurde, wodurch die zurückgehaltene Kohlensäure ausgetrieben wird, sich die ursprüngliche Färbung bald wieder einstellte.

Die Entfärbung dieses Indikators bei Vorhandensein einer rapiden Nitrat-zersetzenden Gärung ist zweifellos zum Teil auf das Freiwerden von naszierendem Wasserstoff zurückzuführen, denn es ist bekannt, daß Phenolphthalein in Anwesenheit von solchem Wasserstoff seine Farbe verliert, dieselbe jedoch, der Luft ausgesetzt, sofort wieder erlangt. Außerdem kommt aber auch Säurebildung für die Entfärbung des Phenolphthaleins in Betracht. Die Farblosigkeit der mit Paraffin verschlossenen Kulturen ist zweifelsohne von zwei Faktoren bedingt, von dem Zurückhalten der Kohlensäure und dem Abschluß des Luftsauerstoffs. Um zu sehen, ob Paraffinbedeckung CO_2 zurückhält, wurden folgende Bestimmungen ausgeführt:

Bakterienarten	Kohlensäure in mg pro 100 g Medium
<i>B. pyocyaneus</i> mit Paraffin bedeckt	36,05 mg
<i>B. fluorescens</i> liq. mit Paraffin bedeckt	35,05 „
<i>B. pyocyaneus</i> ohne Paraffin	0,80 „
<i>B. fluorescens</i> liq. ohne Paraffin	0,75 „
Kontrolle nicht geimpft	0,70

Die Analysen wurden an 500 ccm großen Proben nach 30tägigem Wachstum vorgenommen; vorhergegangene Untersuchungen auf Zitronensäure zeigten, daß nur eine Spur derselben noch vorhanden war. Aus den angeführten Zahlen ergibt sich, daß eine ziemlich große Menge von CO_2 in einer mit Paraffin bedeckten Kulturlösung zurückgehalten wird. Ohne Paraffin ist die Kohlensäure nach 30 Tagen völlig verschwunden (vgl. mit der Anfangskontrolle). Phenolphthalein ist ein CO_2 gegenüber sehr empfindlicher Indikator und reagiert infolgedessen sauer in allen mit Paraffin verschlossenen Kulturen. Zu dieser zurückgehaltenen Kohlensäure kommt noch höchstwahrscheinlich eine Anzahl flüchtiger organischer Säuren, die eine wichtige Rolle bei der Säurebildung unter Paraffin spielen. Beim Schütteln der entfärbten Kulturen kehrt die Farbe zurück, einerseits weil der Luftsauerstoff wirkt und andererseits, weil die in der Flüssigkeit gelöste CO_2 entfernt wird.

Ein hübsches Bild der Gärung durch die infolge der Nitratreduktion eintretende Alkalibildung bietet Versuch 9, 9a und die beigegebenen Abbildungen (Tafel II—III). Hier waren die Kulturen zu Anfang in zwei Abteilungen geteilt worden, von denen die eine schwach sauer, die andere schwach alkalisch war. Der Wechsel der Farbe nach 25 Tagen ist überraschend; bei den sauer reagierenden unverschlossenen Kulturen wurde die Lösung alkalisch und nahm eine tiefrote Farbe an, die mit Paraffin verschlossenen Kulturen blieben farblos. Bei schwach alkalisch reagierenden Kulturen wurde das Medium in Luft noch tiefer rot gefärbt, während die mit Paraffin verschlossenen farblos wurden. Dieser Wechsel der Farbe ist leicht erklärt auf Grund der Resultate der oben genannten Versuche. Ohne Paraffin verschwinden die freien flüchtigen Säuren bald. In mit Paraffin verschlossenen Kulturen werden diese Säuren in der Nährlösung festgehalten; dadurch wird die Reaktion und die Färbung leicht erklärt (s. Tafel II—III).

Versuch 9.

		Sauer				
Tage alt		Anfang	2	4	6	8
Nährlösung Giltay Zucker		Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe
1	B. Hartlebi	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos
1'	B. Hartlebi Paraffin	"	"	"	"	"
2	B. pyocyaneus	"	"	"	"	"
2'	B. pyocyaneus Paraffin	"	"	"	"	"
3	B. fluorescens	"	"	"	"	"
3'	B. fluorescens Paraffin	"	"	"	"	"
4	B. denitrificans	"	"	"	"	"
4'	B. denitrificans Paraffin	"	"	"	"	"

Versuch 9a.

		Sauer				
Tage alt		Anfang	2	4	6	8
Nährlösung Giltay Zitronensäure						
1	B. Hartlebi	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Blaßrot
1'	B. Hartlebi Paraffin	"	"	Farblos	Farblos	Farblos
2	B. pyocyaneus	"	"	Blaßrot	Rot	Rot
2'	B. pyocyaneus Paraffin	"	"	Farblos	Farblos	Farblos
3	B. fluorescens	"	"	Blaßrot	Blaßrot	Rot
3'	B. fluorescens Paraffin	"	"	Farblos	Farblos	Farblos
4	B. denitrificans	"	"	Farblos	Farblos	Farblos
4'	B. denitrificans Paraffin	"	"	Farblos	Farblos	Farblos

Der Einfluß von Wasserstoff und von sauerstofffreier Luft auf die Nitratreduktion in Phenolphtaleinkulturen.

Zu dieser Untersuchung wurden 24 Stunden alte denitrifizierende Bakterienkulturen (Nährlösung No. 1) in eine Wasserstoffatmosphäre gebracht und einen Monat lang darin belassen. Durch Vergleichen mit gleichen, aber nicht mit Wasserstoff behandelten Kulturen ergab sich, daß die Reduktion in reiner Wasserstoffatmosphäre nicht so rasch wie in gewöhnlicher Luft vor sich geht, weil Sauerstoff für die Vermehrung nötig ist.

Zur Herstellung sauerstofffreier Kulturen wurden die Omelianskischen Röhren verwendet. Bei Entfernung des Sauerstoffs aus der Luft war das Wachstum zuerst verlangsamt, doch war nach wenigen Tagen alle NO_3 zersetzt. Die Phenolphtaleinkulturen veränderten sich genau wie in gewöhnlicher Luft, wurden rot, rosa, farblos und schließlich dunkelrot. In einem nicht ganz einwandfreien Experiment zeigt Weissenberg¹⁾, daß zur Vermehrung der denitrifizierenden Bakterien Sauerstoff nötig ist. Aus den Resultaten unserer zwei Versuche ergibt sich, daß weder eine sauerstofffreie Luft, noch eine reine Wasserstoffatmosphäre auf die Denitrifikation eine günstige Wirkung haben, etwa weil dann die Bakterien eine erhöhte Neigung haben, Sauerstoff aus Nitrat zu beziehen, daß vielmehr Sauerstoff am Anfang zur Vermehrung nötig ist. Nach der ersten Inkubationsperiode sind aber die Nitrat-reduzierenden Bakterien imstande, eine rapide Nitratreduktion ohne Luftsauerstoff hervorzurufen.

¹⁾ l. c.

Phenolphthalein.

		Alkalisch							
10	12		Anfang	2	4	6	8	10	12
Farbe	Farbe		Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe
Farblos	Farblos	1	Rot	Rot	Rot	Rot	Farblos	Blaßrot	Rot
"	"	1'	Rot	Rot	Rot	Rot	Blaßrot	Farblos	Farblos
"	"	2	Rot	Rot	Rot	Rot	Rot	Blaßrot	Rot
"	"	2'	Rot	Rot	Rot	Rot	Farblos	Farblos	Farblos
"	"	3	Rot	Rot	Rot	Rot	Blaßrot	Rot	Rot
"	"	3'	Rot	Rot	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos
"	"	4	Rot	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Blaßrot	Rot
"	"	4'	Rot	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos

Phenolphthalein.

		Alkalisch							
10	12		Anfang	2	4	6	8	10	12
Rot	Rot	1	Rot	Rot	Rot	Rot	Rot	Rot	Rot
Farblos	Farblos	1'	Rot	Rot	Rot	Rot	Rot	Farblos	Farblos
Rot	Rot	2	Rot	Rot	Blaßrot	Rot	Rot	Rot	Rot
Farblos	Farblos	2'	Rot	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos
Rot	Rot	3	Rot	Farblos	Farblos	Rot	Rot	Rot	Rot
Farblos	Farblos	3'	Rot	Blaßrot	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos
Blaßrot	Rot	4	Rot	Farblos	Farblos	Blaßrot	Rot	Rot	Rot
Farblos	Farblos	4'	Rot	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos	Farblos

Rosolsäure.

Dieser schöne Farbstoff ist sehr wertvoll zur Feststellung saurer und alkalischer Reaktionen in Bakterienkulturen, ist aber leider wie Phenolphthalein sehr empfindlich gegen Kohlensäure. In verdünnten Lösungen (0,3 ccm einer 1-proz. alkoholischen Lösung von Rosolsäure auf 10 ccm Nährlösung) wirkt dieser Farbstoff nicht giftig und in Nährlösung No. 1 mit den vier Nitrat-reduzierenden Bakterienarten geimpft zeigt sich nach einer Woche Wachstum in allen mit Paraffin verschlossenen Röhren und eine schöne gelbe Orangefarbe, hervorgerufen durch die zurückgehaltene Kohlensäure, während die nicht mit Paraffin versehenen eine tiefe blutrote Färbung annehmen, erzeugt durch die Zunahme an Alkali infolge Karbonatbildung. Durch Bakterienwachstum wird Rosolsäure also in ganz ähnlicher Weise wie Phenolphthalein beeinflusst.

Neutralrot.

Wachstum und Reduktion bei diesem Indikator war ähnlich wie bei den vorhergehenden Farbstoffen, nur daß der Unterschied in der Farbe nicht so groß und so deutlich war (s. Versuch 10).

Lakmus.

Mit Lakmus als Indikator wachsen die denitrifizierenden Bakterien lebhaft und unter Paraffin werden die Kulturen bald blasser, doch niemals völlig entfärbt. Das Verhältnis des Wachstums ist ungefähr dasselbe für Phenolphthalein und Lakmus (s. Versuch 11 u. Tafel IV Erklärung s. S. 449).

	Tage alt	Anfang			2			4		
	Nährlösung II	Farbe	NO ₂	NO ₃	Farbe	NO ₂	NO ₃	Farbe	NO ₂	NO ₃
1	B. Hartlebi	Gelb	—	+	Gelb	—	+	Gelb	—	+
1'	B. Hartlebi Paraffin	Gelb	—	+	Gelb	—	+	Gelb	—	+
2	B. pyocyaneus	Gelb	—	+	Gelb	+	+	Gelb	+	—
2'	B. pyocyaneus Paraffin	Gelb	—	+	Gelb	+	+	Gelb	—	—
3	B. fluorescens	Gelb	—	+	Gelb	+	+	Gelb	+	+
3'	B. fluorescens Paraffin	Gelb	—	+	Gelb	+	+	Gelb	+	—
4	B. denitrificans	Gelb	—	+	Rot	+	+	Gelb	+	+
4'	B. denitrificans Paraffin	Gelb	—	+	Rot	+	+	Rot	+	+
5	B. coli	Gelb	—	+	Rot	+	+	Gelb	+	+
5'	B. coli Paraffin	Gelb	—	+	Rot	+	+	Rot	+	+

Kongorot.

Dieser Indikator verzögert das Wachstum und scheidet sich aus. Er ist für diesen Zweck nicht gut zu gebrauchen (s. Versuch 12).

Methylorange.

Methylorange wurde probiert, doch fand kein Wachstum statt.

Methylrot = P. dimethylamidoazobenzol-O-Karbonsäure.

Dieser neue und sehr empfindliche Indikator wird von den denitrifizierenden Bakterien völlig zerstört und erlangt seine gewöhnliche Farbe durch Schütteln mit Luft oder Beigabe oxydierender Mittel nicht wieder. Seine Wirkung auf reduzierende Bakterien ist eigentümlich; durch naszierenden Wasserstoff wird er sehr schwer reduziert, in Bakterienkulturen jedoch sehr bald vernichtet. Er ist nicht wie viele andere Farbstoffe giftig, außer in sehr großen Mengen. Gegen CO₂ ist er sehr empfindlich, wird auch in Nitrat-reduzierenden Kulturen so rasch zerstört, so daß er zur Feststellung der Reaktion und der Reduktionskraft von geringem Wert ist.

Methylenblau.

Die vorzügliche Verwendbarkeit dieses Farbstoffes für die Reduktionsprobe ist von vielen Forschern beschrieben¹⁾; derselbe wirkt nicht hemmend auf das Bakterienwachstum, ist besonders leicht reduzierbar und in den schwächsten Lösungen sehr leicht festzustellen. Alle diese guten Eigenschaften des Methylenblau machen es zu einem ausgezeichneten, oft benutzten Mittel, die Reduktionsfähigkeit der verschiedenen Bakterien zu messen. In Bouillon oder synthetischen Kulturmedien mit reduzierenden Bakterien geimpft wird dieser Farbstoff sehr rasch zu einem farblosen Leukomethylenblau reduziert, das, der Atmosphäre ausgesetzt, bald wieder zu dem ursprünglichen Dunkelblau oxydiert wird. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Entfärbung der Farbstoffe durch die Mikroorganismen nach

¹⁾ Carapelle, Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 545.

Kitasato u. Weyl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890.

Müller, F., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 26. p. 51 u. 1899. p. 801.

Rothberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 24. p. 513 u. Bd. 25. 1899. p. 15.

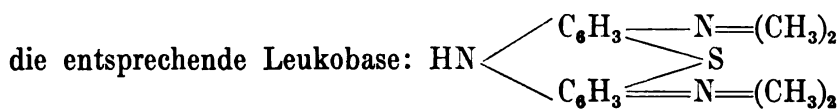
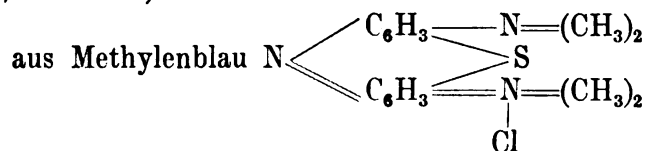
Smith, Th., Centralbl. f. Bakt. Bd. 19. 1896. p. 181.

Wolff, A., Arb. path. Inst. Tübingen. 3. p. 294.

Neutralrot

6			8			10			12			14		
Farbe	NO ₂	NO ₃	Farbe	NO ₂	NO ₃	Farbe	NO ₂	NO ₃	Farbe	NO ₂	NO ₃	Farbe	NO ₂	NO ₃
Gelb	—	+	Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—
Gelb	—	+	Rotg.	—	—	Rot	—	—	Rot	—	—	Rot	—	—
Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—
Rotg.	—	—	Blaßr.	—	—	Rot	—	—	Rot	—	—	Rot	—	—
Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—	Gelb	—	—
Rotg.	—	—	Blaßr.	—	—	Blaßr.	—	—	Rot	—	—	Rot	—	—
Gelb	+	+	Gelb	+	+	Gelb	+	+	Gelb	+	+	Gelb	+	+
Rot	+	+	Rot	+	+	Rot	+	+	Rot	+	+	Rot	+	+
Gelb	+	+	Gelb	+	+	Gelb	+	+	Gelb	+	+	Gelb	+	+
Rot	+	+	Rot	+	+	Rot	+	+	Rot	+	+	Rot	+	+

der folgenden Formel verlaufen, aus Methyleneblau entsteht das sogenannte Leukoprodukt, so z. B.¹⁾



In diesem Falle wird nach Kruse die Veränderung durch Eintreten von Wasserstoffatomen (nicht Entziehung von Sauerstoff, wie bei anderen Reduktionen) bewirkt, die bei Berührung mit dem Luftsauerstoff wieder entfernt werden. Woher der reduzierende Wasserstoff entnommen wird, wissen wir nicht, vermutlich sind es aber organische Substanzen, da solche die Reduktion begünstigen.

Qualitative Experimente mit Methyleneblaulösungen in Probierröhrchen zeigten etwa folgenden Verlauf der Farbstoffreduktion durch denitrifizierende Bakterien (s. Versuch 13, 14, 15 mit den Abbildungen s. Tafel V, VI). In Bouillon beginnt die Zerstörung des Farbstoffs zuerst langsam und wächst dann, bis die Lösung farblos geworden ist. Kurz nach dieser Periode schneller Entfärbung fängt die Lösung durch Einwirkung des Luftsauerstoffs an, ihre ursprüngliche blaue Farbe wieder zu erlangen, wobei sich dieselbe von der Oberfläche allmählich nach unten hin verbreitet. In allen unter Paraffin befindlichen Kulturen blieb die einmal reduzierte Lösung farblos, bis das Paraffin entfernt wurde. Hier verhinderte die Paraffindecke die Oxydation, während sie bei Phenolphthalein das Entweichen von CO₂ verhinderte. Diese Reduktion des Methyleneblau findet in alkalischen und sehr schwach saurehaltigen Medien statt, in den letzteren aber sehr viel rascher.

Man könnte hierbei versucht sein, darauf hinzuweisen, daß Methyleneblau durch Wasserstoff in statu nascendi oder durch Dextrose oder Zitronensäure bei Gegenwart von viel Alkali sehr leicht entfärbt wird und daß diese Vorgänge auch in unseren Versuchen wesentlich mitgespielt haben. Daß dies nicht der Fall ist, beweist der Umstand, daß ungeimpfte Kulturen gefärbt blieben.

¹⁾ Nach Kruse, Mikrobiologie 1910. p. 477.

Digitized by Google

Quantitative Bestimmung der Reduktionskraft der denitrifizierenden Bakterien.

Bei den meisten Farbstoffen ist es nur möglich die Zeit festzustellen, in welcher verschiedene Bakterien unter verschiedenen Bedingungen den Farbstoff völlig entfärben und so die Reduktionskraft der Bakterien zu messen. Solche Vergleiche sind nicht zuverlässig und in den vielen Fällen, wo nicht vollständige Reduktion eintritt, fast wertlos. Glücklicherweise bieten nun die Arbeiten von Edm. Knecht und Eva Hibbird und die ausgezeichnete kürzlich erschienene Schrift von H. Wichern¹⁾: „Zur quantitativen Bestimmung der Reduktionskraft von Bakterien und tierischen Organismen“ neue und genaue Methoden zur quantitativen Messung der Reduktionsfähigkeit des Methylenblau durch die Mikroorganismen. Die Methode von Wichern besteht in der Anwendung von Titantrichlorid in schwachen Lösungen; die 15-proz. käufliche TiCl_3 -Lösung wird verdünnt wie folgt: 9 ccm TiCl_3 werden mit 9 ccm HCl (konz.) gemischt, erhitzt, bis aller Sauerstoff verschwunden ist und darauf mit drei Litern sauerstofffreien Wassers verdünnt. Die Lösung wird in einer Flasche aufbewahrt, die mit einem Gummistopfen verschlossen ist, der drei Öffnungen besitzt, nämlich zwei zum Anschluß einer Burette und eine zum Anschluß eines Kipp-schen Apparates, damit die ganze Flüssigkeit unter Wasserstoff oder bequemer unter Kohlensäure gehalten werden kann. Von Zeit zu Zeit wird die Stärke dieser Lösung durch Titrieren an einer bekannten Lösung von Eisenchlorid mit Rhodankalium als Indikator gemessen. 1 g Farbstoff, z. B. Methylenblau, wird in einem Liter (destill.) Wasser mit 0,85 Proz. Kochsalzgehalt aufgelöst und wie die Titantrichloridlösung unter CO_2 gehalten. Zur Messung der Reduktionskraft von Bakterienkulturen wird auf 10 ccm der Nährflüssigkeit 1 ccm dieses verdünnten Farbstoffes zugegeben, und nach dem Sterilisieren und Impfen eine 5—6 cm starke Paraffindecke darüber gegossen. Das Titrieren geschieht stets unter Paraffin, um so die neuerliche Oxydation des Methylenblau zu verhindern.

Zur quantitativen Untersuchung der Reduktion von Methylenblau nach dieser Methode wurde von mir Fleischbouillon und Nährlösung No. 1 verwendet. Diese wurden in lange Probierröhrchen eingefüllt und zwar 10 ccm in jedes Röhrchen, denen je 1 ccm der Methylenblaulösung zugesetzt wurde. Nach zweimaligem Sterilisieren wurden die Kulturen mittels einer Platinöse von einer 24 Stunden alten Bouillonstammkultur von denitrifizierenden Bakterien geimpft. Um möglichst genaue Resultate zu erhalten, muß die Nadel so beschaffen sein, daß sie jedesmal ungefähr die gleiche Anzahl von Bakterien überträgt. Die geimpften Kulturen werden sofort mit einer dicken Schicht von sterilem Paraffin bedeckt und ins Brutzimmer bei 30°C gebracht. Von Zeit zu Zeit werden Proben entnommen und, wie aus den folgenden Kurven und Tabellen ersichtlich, titriert. Zu jeder Titration müssen mindestens drei verschiedene Kulturen verwendet werden, und der Durchschnittswert dieser drei gilt als der richtige. Da die Reaktion nicht augenblicklich vor sich geht, muß die Wirkungsdauer des TiCl_3 3—4 Minuten betragen. Doch findet nach 10 Minuten eine entgegengesetzte Wirkung statt, und es gehört einige Übung dazu, um genaue Resultate zu erhalten.

¹⁾ Archiv f. Hyg. Bd. 72. 1910. Vgl. auch Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 57.

Versuch 13.

		Sauer				
Tage alt		Anfang	2	4	6	8
Nährlösung Giltay Zucker		Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe
1	B. Hartlebi	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
1'	B. Hartlebi Paraffin	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
2	B. pyocyaneus	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
2'	B. pyocyaneus Paraffin	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
3	B. fluorescens	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
3'	B. fluorescens Paraffin	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
4	B. denitrificans	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
4'	B. denitrificans Paraffin	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau

Versuch 14.

		Sauer				
Tage alt		Anfang	2	4	6	8
Nährlösung Giltay Zitronensäure						
1	B. Hartlebi	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
1'	B. Hartlebi Paraffin	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
2	B. pyocyaneus	Blau	Hellblau	Hellblau	Grünblau	Grünblau
2'	B. pyocyaneus Paraffin	Blau	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt
3	B. fluorescens	Blau	Hellblau	Hellblau	Grünblau	Grünblau
3'	B. fluorescens Paraffin	Blau	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt
4	B. denitrificans	Blau	Hellblau	Hellblau	Blau	Blau
4'	B. denitrificans Paraffin	Blau	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt

Versuch 15.

		Tage alt	Anfang	2	4
		Nährlösung II.			
1	B. Hartlebi		Blau	Blau	Blau
1'	B. Hartlebi Paraffin		Blau	Blau	Blau
2	B. pyocyaneus		Blau	Blau	Blaßblau
2'	B. pyocyaneus Paraffin		Blau	Blau	Entfärbt
3	B. fluorescens		Blau	Blau	Blaßblau
3'	B. fluorescens Paraffin		Blau	Blau	Blaßblau
4	B. denitrificans		Blau	Blau	Blaßblau
4'	B. denitrificans Paraffin		Blau	Blau	Entfärbt

Die Reduktion von Methylenblau durch *B. pyocyaneus*, *B. fluorescens liquefaciens* und *B. denitrificans*.

Als Nährstoff wurde zu diesem Versuch Fleischbouillon verwendet. Die quantitative Bestimmung der Reduktion des Methylenblau bei den zwei ersten Arten ersieht man am besten aus Versuch 16 und 17. Daraus erkennt man, daß die Reduktion zwischen der 11. und 12. Stunde beginnt

Methylenblau.

		Alkalisch							
10	12		Anfang	2	4	6	8	10	12
Farbe	Farbe		Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe	Farbe
Blau	Blau	1	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
Blau	Blau	1'	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
Blau	Blau	2	Blau	Blau	Hellblau	Blau	Blau	Blau	Blau
Blau	Blau	2'	Blau	Blau	Hellblau	Hellblau	Hellblau	Hellblau	Hellblau
Blau	Blau	3	Blau	Blau	Hellblau	Blau	Blau	Blau	Blau
Blau	Blau	3'	Blau	Blau	Hellblau	Hellblau	Hellblau	Hellblau	Hellblau
Blau	Blau	4	Blau	Blau	Hellblau	Blau	Blau	Blau	Blau
Blau	Blau	4'	Blau	Blau	Hellblau	Hellblau	Hellblau	Hellblau	Hellblau

Methylenblau.

		Alkalisch							
10	12		Anfang	2	4	6	8	10	12
Blau	Blau	1	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
Entfärbt	Entfärbt	1'	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Entfärbt	Entfärbt
Grünblau	Grünblau	2	Blau	Hellblau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
Entfärbt	Entfärbt	2'	Blau	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt
Grünblau	Grünblau	3	Blau	Hellblau	Hellblau	Hellblau	Blau	Blau	Blau
Entfärbt	Entfärbt	3'	Blau	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt
Blau	Blau	4	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau	Blau
Entfärbt	Entfärbt	4'	Blau	Blau	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt

Methylenblau.

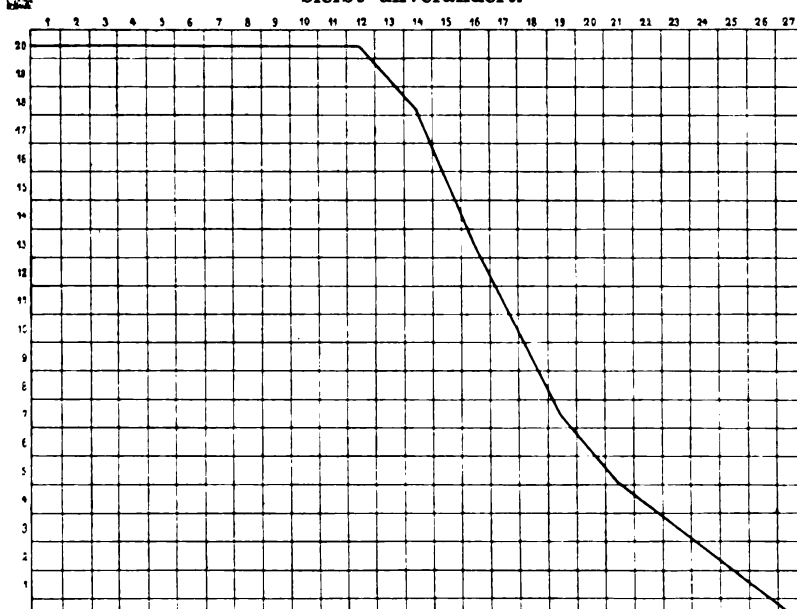
6	8	10	12	14
Blau	Blau	Blaßblau	Blau	Blau
Blau	Blau	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt
Blaßblau	Blaßblau	Blau	Blau	Blau
Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt
Blaßblau	Blaßblau	Blaßblau	Blau	Blau
Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt
Entfärbt	Blaßblau	Blau	Blau	Blau
Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt	Entfärbt

und bis zur 16.—18. Stunde sehr rasch vor sich geht, dann aber langsamer vorschreitet, bis die Flüssigkeit farblos geworden ist. Kurve 4 und 5 zeigen die Geschwindigkeit der Reduktion bei diesen beiden Organismenarten; *B. fluorescens* zersetzt Methylenblau etwas rascher als *B. pyocyaneus*, doch ist kein beträchtlicher Unterschied vorhanden. Vergleicht man die Kurven der Nitrat- und der Methylenblaureduktion, so wird man von der Gleichartigkeit überrascht. Zuerst ein Inkubations-

Versuch 16 mit *B. pyocyaneus*.
Titer der Titanlösung für 0,01 Fe = 85 ccm TiCl_3 -Lösung.

Zeit der Titration nach Beginn des Versuches	Zahl der zur Titration verbrauchten Kubikzentimeter der TiCl_3 -Lösung 3 Parallelproben		
Kontrollröhrchen bei Beginn des Versuches	2,1	2,0	2,1
Nach 12 Stunden	2,0	1,95	2,0
„ 14 „	1,85	1,8	1,85
„ 16 „	1,3	1,25	1,35
„ 19 „	0,7	0,65	0,7
„ 21 „	0,5	0,4	0,4
„ 26 „	0,15	0,2	0,1
„ 27 „	0,0	0,0	0,0
Kontrollröhrchen am Ende des Versuches	2,2	2,0	2,0

Bouillon. Geimpft von einer 24stündigen Bouillonkultur. Der Titer der Titanlösung bleibt unverändert.



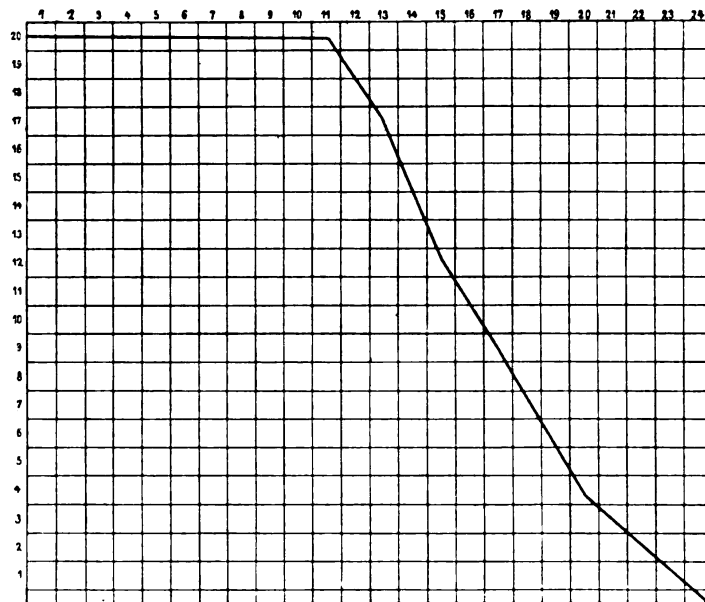
Kurve 4.

Versuch 17 mit *B. fluorescens liquefaciens*.
Titer der Titanlösung für 0,001 Fe = 85 ccm TiCl_3 -Lösung.

Zeit der Titration nach Beginn des Versuches	Zahl der zur Titration verbrauchten Kubikzentimeter der TiCl_3 -Lösung 3 Parallelproben		
Kontrollröhrchen bei Beginn des Versuches	2,1	2,0	2,1
Nach 11 Stunden	2,0	1,8	1,9
„ 13 „	1,6	1,7	1,75
„ 15 „	1,3	1,2	1,2
„ 17 „	0,9	1,0	0,9
„ 20 „	0,4	0,5	0,4
„ 22 „	0,2	0,2	0,3
„ 24 „	0,0	0,0	0,0
Kontrollröhrchen am Ende des Versuches	2,1	2,0	2,0

Bouillon. Geimpft von einer 24stündigen Bouillonkultur. Der Titer der Titanlösung blieb unverändert.

stadium, bis genügend Bakterien durch Vermehrung entstanden sind bzw. genügend reduzierende Enzyme entstanden sind, dann plötzlich lebhaftere Reduktion von Nitrat, Methylenblau usw. In einer späteren Mitteilung über die Methylenblaureduktion durch Milch komme ich hierauf näher zurück.



Kurve 5.

Die Reduktionskurve für *B. denitrificans* verläuft, wie aus Kurve 6 und Versuch 18 ersichtlich, viel steiler als bei den obigen Arten.

Versuch 18 mit *B. denitrificans*.

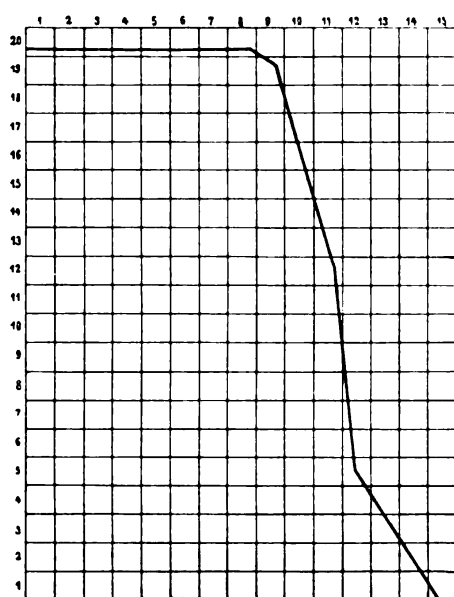
Titer der Titanlösung für 0,01 Fe = 95 ccm.

Zeit der Titration nach Beginn des Versuches	Zahl der zur Titration verbrauchten Kubikzentimeter der $TiCl_3$ -Lösung 3 Parallelproben		
Kontrollröhrchen bei Beginn des Versuches	2,4	2,3	2,4
Nach 6 Stunden	2,4	2,4	2,35
" 8 "	2,3	2,25	2,3
" 9 "	1,9	1,95	1,9
" 10 "	1,65	1,7	1,6
" 11 "	1,2	1,25	1,25
" 12 "	0,6	0,6	0,5
" 13 "	0,4	0,3	0,4
" 14 "	0,0	0,0	0,0
Kontrollröhrchen am Ende des Versuches	2,3	2,2	2,35

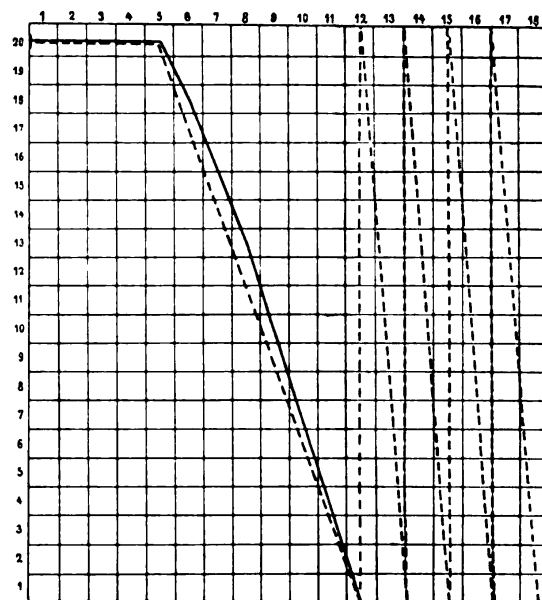
Bouillon. Geimpft von einer 24stündigen Bouillonkultur. Der Titer der Titanlösung blieb unverändert.

Die Reduktion beginnt ungefähr in der 8. Stunde, geht zuerst langsam vor sich, dann aber bald sehr schnell bis zur 12. Stunde, wo die Geschwindigkeit etwas nachläßt. Die Lösung wird zwischen der 14. und 15. Stunde farblos. Um die Reduktion wiederholter Gaben von Methylenblau zu verfolgen, wurde folgender Versuch angestellt (s. Kurve 7). Einer 12 Stunden

alten Fleischbouillonkultur von *B. denitrificans* wurde 1 ccm Methylenblau zugesetzt und dasselbe nach jeweiliger Reduktion mehrmals wiederholt. Kurve 7 zeigt das Resultat. Selbst nach 6maliger Zugabe konnte keine Verlangsamung der Reduktion des Farbstoffes festgestellt werden. Die 12 Stunden alte Fleischbouillonkultur vernichtete 1 ccm des Farbstoffes in einer Stunde und tat 5mal anscheinend dasselbe, ohne eine Schwächung der Reduktionsfähigkeit zu zeigen. Vermutlich hätte die Kultur noch viele Male neu zugesetztes Methylenblau ebenso glatt reduziert.



Kurve 6.



Kurve 7.

Hieraus geht hervor, daß es mittels der Titantrichloridmethode möglich ist, die Menge des reduzierten Farbstoffes rasch und genau zu messen. Der allgemeine Verlauf der Reduktion war bei allen drei Typen ähnlich, er beginnt langsam, geht eine Weile sehr rasch vor sich und erfährt vor der völligen Entfärbung eine geringe Verzögerung.

Reduktion von Methylenblau bei verschiedenen Energiequellen.

Mit dieser quantitativen Methode wurde nun zunächst der Einfluß verschiedener Energiequellen auf die Reduktion von Methylenblau durch denitrifizierende Bakterien gemessen, da es wahrscheinlich ist, daß das Reduktionsvermögen der denitrifizierenden Bakterien im höchsten Grade durch die Energiequelle beeinflusst wird.

Zu diesen Versuchen wurde Nährlösung No. 1 folgendermaßen abgeändert benutzt: Die Nitrate wurden durch schwefelsaures Ammonium als Stickstoffquelle ersetzt, um den Bakterien den Sauerstoffbezug aus den Nitraten unmöglich zu machen, die Zitronensäure wurde durch Rohrzucker, Dextrose oder Glycerin vertreten. Die Bakterien wuchsen jedoch auf solchen Nährlösungen nicht gut, und ein Vergleich der so erhaltenen Kurven der Farbstoffreduktion war ziemlich wertlos.

Weitere deshalb mit Nitrat angestellte vergleichende qualitative Versuche mit Zitronensäure und Glycerin als Energiequellen ergaben, daß die

erstere als Energiequelle viel geeigneter ist und schneller Farbstoffreduktion herbeiführt.

Quantitative Versuche mit Titan über Wirkung von Zitronensäure mit und ohne Rohrzuckerzusatz als Energiequelle bei Gegenwart von Nitrat gaben kein klares Resultat, weil, wie nachher erwähnt, das Nitrat störend bei der Anwendung des Titantrichlorid wirkt.

Der Einfluß von Wasserstoff, sauerstofffreier Luft und Luft auf die Reduktion des Methylenblau durch denitrifizierende Bakterien.

Frühere Versuche haben gezeigt (p. 433, 434), daß Nitratreduktion schneller in gewöhnlicher Luft, als in Wasserstoffatmosphäre oder sauerstofffreier Luft stattfindet, und in diesem Sinne wurde der folgende Versuch geplant, um also zu sehen, ob die Reduktion von Methylenblau schneller vor sich geht in Wasserstoff oder sauerstofffreier Luft. Die erzielten Resultate ergaben das Erwartete und bestätigen die bei Untersuchung der Nitratreduktion unter gleichen Bedingungen erhaltenen Resultate. Methylenblaureduktion geht also in Wasserstoff oder sauerstofffreier Luft nicht so schnell vor sich wie in Luft, weil etwas Sauerstoff zur Vermehrung der denitrifizierenden Bakterien nötig ist.

Zu diesem Versuche wurden mit Methylenblau versetzte Bouillonröhrchen mit den verschiedenen denitrifizierenden Bakterien geimpft und mit sterilem Paraffin bedeckt. Eine Reihe wurde an der Luft stehen gelassen, die andere mit Wasserstoff und sauerstofffreier Luft behandelt. Die Wasserstoffbehandlung geschah folgendermaßen: Die Kulturen befanden sich in einem Zylinder mit 2 Tubulaturen, durch den ich alle 24 Stunden Wasserstoff aus einem Kipp'schen Apparat leitete; zu den Kulturen in sauerstofffreier Luft wurde der Omelianskische Apparat benutzt.

Titration des Methylenblau in nitrathaltiger Lösung.

Wenn Sauerstoff hierbei nur zur Bakterienvermehrung nötig ist, mußte sich das Bild des Sauerstoffeinflusses auf die Methylenblaureduktion verschieben, wenn man stark impfte, also von vornherein viel Bakterien zusetzte und die Kultur teils in Luft, teils in Wasserstoff hielt.

Für diese Untersuchung wurde nicht Bouillon, sondern Nährlösung No. 1 — also eine nitrathaltige — benutzt.

Nach bestimmten Zeitintervallen wurden Röhrchen herausgenommen und, wie aus Versuch 19 und 20 ersichtlich, mit Titan titriert. Die so erhaltenen Resultate waren sehr merkwürdig und zuerst schwer zu verstehen. Zu Anfang findet nämlich eine geringe Reduktion statt, die aber bald aufhört, und große Mengen der TiCl_3 -Lösung sind dann nötig, um den Farbstoff zu reduzieren. (S. Kurve 8 und 9.) Nach etwa 100 Stunden verschwindet die die Methylenblaureduktion verzögernde Substanz und die Lösung wird farblos. Sorgfältige Untersuchungen ergaben, daß diese Verzögerung der Farbstoffreduktion auf das Vorkommen von Nitriten zurückzuführen ist, die durch die Nitrat-reduzierenden Organismen bei der Einwirkung auf NO_3 gebildet worden waren. Die geringste Spur salpetriger Säure hat, wie spätere Versuche gezeigt haben, einen deutlichen Einfluß auf die Reduktionskraft von TiCl_3 für Methylenblau, weil das Titantrichlorid zur Reduktion des Nitrits verbraucht wird.

Versuch 19 mit *B. pyocyaneus*.
Titer der Titanlösung für 0,01 Fe = 75 ccm.

Zeit der Titration nach Beginn des Versuches	Zahl der zur Titration verbrauchten Kubikzentimeter der TiCl_3 -Lösung 3 Parallelproben					
	Luft			Wasserstoff		
Kontrollröhrchen bei Beginn des Versuches	2,4	2,3	2,4	2,3	2,4	2,4
Nach 5 Stunden	1,7	1,8	1,7	1,9	1,8	1,8
„ 15 „	14,5	15,3	15,4	7,5	8,2	8,5
„ 25 „	45,0	40,5	32,0	25,5	20,2	25,0
„ 50 „	45,5	46,0	45,5	42,0	43,5	48,0
„ 70 „	30,5	36,0	30,0	45,8	47,9	45,0
„ 100 „	5,0	5,5	5,0	15,0	15,6	15,5
„ 105 „	0,0	0,0	0,0	7,5	7,8	7,0
„ 110 „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Kontrollröhrchen am Ende des Versuches	2,1	2,0	2,1	2,2	2,1	2,1

Giltays Lösung. Geimpft mit 1 ccm von einer 24stündigen Bouillonkultur. Der Titer der Titanlösung blieb unverändert.

Versuch 20 mit *B. fluorescens liquefaciens*.
Titer der Titanlösung für 0,01 Fe = 75 ccm.

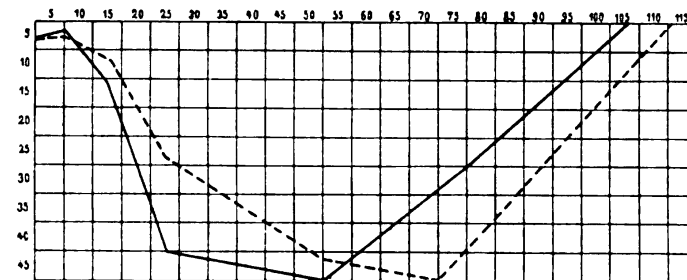
Zeit der Titration nach Beginn des Versuches	Zahl der zur Titration verbrauchten Kubikzentimeter der TiCl_3 -Lösung 3 Parallelproben					
	Luft			Wasserstoff		
Kontrollröhrchen bei Beginn des Versuches	2,4	2,3	2,4	2,3	2,4	2,3
Nach 5 Stunden	1,8	1,75	1,8	1,9	1,8	1,9
„ 15 „	8,5	9,5	8,0	4,1	3,7	4,0
„ 25 „	11,5	10,8	11,0	6,5	6,5	6,0
„ 50 „	48,5	49,5	45,0	30,0	34,5	31,0
„ 75 „	30,0	25,8	27,8	36,2	34,5	35,0
„ 100 „	3,0	3,5	2,8	12,0	14,5	12,5
„ 105 „	0,0	0,0	0,0	8,5	9,2	8,6
„ 115 „	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Kontrollröhrchen am Ende des Versuches	2,2	2,1	2,2	2,1	2,0	2,0

Giltays Lösung. Geimpft mit 1 ccm von einer 24stündigen Bouillonkultur. Der Titer der Titanlösung blieb unverändert.

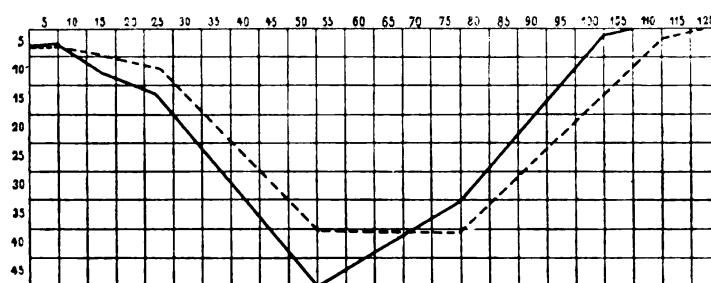
Hiernach erklärt sich die beschriebene Erscheinung wie folgt: Zu Anfang — bevor die Bakterien die Nitratzersetzung beginnen — findet eine geringe Reduktion des Methylenblau statt. Diese Farbstoffreduktion hört bald auf, und gerade der entgegengesetzte Prozeß setzt ein: es folgt eine rapide Zersetzung von Nitraten, wobei große Mengen von Nitrit gebildet werden, und diese letztere sich schnell reduzierende Substanz erfordert große Mengen von TiCl_3 (s. Versuch 19 und 20). Bevor nicht alles NO_2 vernichtet ist, geht keine Farbstoffreduktion vor sich. Diese interessante Erfahrung wurde weiter verfolgt, um für quantitative Untersuchungen festzustellen, ob eine bestimmte Menge Titantrichlorid zur Reduktion einer bestimmten Menge Nitrit oder Nitrat nötig ist. Diese Versuche sind im Anhang mitgeteilt.

Unter Berücksichtigung dieser Wirkung des Nitrits auf Titantrichlorid ergibt sich aus diesen Versuchen, daß in Luft die Bildung von Nitrit und die Reduktion von Methylenblau schneller vor sich geht, wie in Wasserstoff. Deshalb wird in Kurve 10 und 11 zuerst für die Luftkulturen mehr Titan

gebraucht, weil mehr Nitrit da ist, dann aber ist am Schluß das Methylenblau in den Luftkulturen 10–15 Stunden früher wie in den Wasserstoffkulturen völlig reduziert. Diese quantitativen Versuche bestätigen also das Resultat der obigen qualitativen mit Methylenblaubouillon. Zuerst wird die Vermehrung der Bakterien durch Gegenwart von freiem Sauerstoff begünstigt.



Kurve 8.



Kurve 9.

Es folgt eine Liste weiterer Farbstoffe, die ebenfalls von TiCl_3 reduziert werden; infolge ihrer giftigen Wirkung auf lebendige Wesen kommen aber nur wenige von ihnen für bakteriologische Forschungen in Betracht, die eventuell zur Erweiterung meiner hier besprochenen quantitativen Versuche mit Methylenblau noch auszuführen wären.

Reduzierbar sind: Eosin
Rhodamin
Pararosanilin
Kristallviolett
Tolusafranin
Indoin
Äthylblau
Malachitgrün
Methylenblau.

Nicht reduzierbar sind: Auramin
Thioflavin
Methylrot
Rosolsäure
Phenolphthaleïn.

Der Einfluß von Titantrichlorid auf Nitrite und Nitrate.

Frühere Versuche haben gezeigt, daß bei Anwesenheit von Nitriten zur Reduktion des Methylenblau stets größere Mengen der Titantrichloridlösung erforderlich waren, als dies in anderen Lösungen ohne Nitrite der Fall war. Sogar bei sehr kleinen Quantitäten (0,001 mg NO_2 auf 100 ccm der Lösung) ließ sich die verzögernde Wirkung erkennen.

Nitrite sowohl wie Nitrate zerfallen durch die Zugabe von TiCl_3 . Die letzteren beeinflussen die Reduktion des Methylenblau durch Titan nicht,

während die ersteren sehr stark wirken und jede Reduktion des Farbstoffs durch Titan hintanhaltend, bis die Nitrite vollkommen zersetzt sind. Wie die Wirkung bei der Zerstörung der Nitrite durch TiCl_3 vor sich geht, ist nicht bekannt; Gasanalysen ergaben nur, daß keine einheitliche Reaktion stattfand, sondern ein Zerfallen des Nitritmoleküls, wobei sich zwei Gase bildeten, Stickoxyd (NO) und reiner Stickstoff. Hierbei kam ca. ein Teil Stickstoff auf drei Teile Stickoxyd.

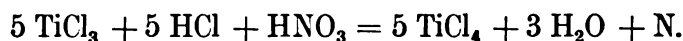
Die Resultate vieler Parallelbestimmungen ergaben, daß das Verhältnis zwischen der vorhandenen salpetrigen Säure und der Menge von Titantrichlorid, die nötig ist, um dieselbe zu zerstören, ziemlich konstant ist. Als Ergebnis zahlreicher Paralleluntersuchungen mit Nitritlösungen von bekanntem Gehalt wurde festgestellt, daß 0,01 mg NO_2 von 0,207 mg TiCl_3 zerstört wird.

Dies bietet eine Methode zur oberflächlichen Nitritbestimmung in Lösungen oder zur Messung des durch die reduzierenden Organismen in den denitrifizierenden Kulturen aus dem NO_3 gebildeten NO_2 . Es wird Methylenblau als Indikator, dessen Stärke für die Analyse bekannt sein muß, benutzt. Es erfordern z. B. 10 ccm Nährlösung No. 1 zwei bis vier Stunden nach der Impfung, bei Vorhandensein von 1 ccm Methylenblaulösung 40 ccm TiCl_3 zur Zerstörung des Farbstoffes. Durch Subtraktion von 2 ccm (der Menge TiCl_3 -Lösung, die zur Entfärbung von 1 ccm Methylenblaulösung genügt) von 40 ccm erhält man 38 ccm = der Menge Titanchlorid, die nötig ist, um die vorhandene salpetrige Säure zu zersetzen. Durch Zuhilfenahme dieses Wertes ist es möglich, aus den Angaben der Tabelle 19 und 20 den jeweiligen Nitritgehalt annähernd zu berechnen. Wie Nitrite die Reduktion von Methylenblau beeinflussen, ist nicht bekannt. Wie oben schon erwähnt, entsteht bei der Zerstörung des Nitrites kein einheitliches Gas, sondern NO neben N im Verhältnis 3 : 1.

Im Gegensatz zu den Nitriten beeinflussen Nitrate die Reduktion von Methylenblau durch TiCl_3 nicht. Die Resultate von Gasanalysen ergaben, daß durch TiCl_3 bei Anwesenheit von Luft NO_3 gänzlich zersetzt und freier Stickstoff gebildet wird. Eine Lösung von bekanntem Nitratgehalt ergab bei der Gasanalyse unter Anwendung der Tüpfelmethode und Benutzung von Diphenylamin als Indikator: 13,46 mg N auf 50 ccm Lösung, während sie tatsächlich 14,00 mg N enthielt.

Daraus folgt, daß zur Analyse von NO_3 statt FeCl_2 nach der Schlösing'schen Methode¹⁾ auch TiCl_3 benutzt werden kann.

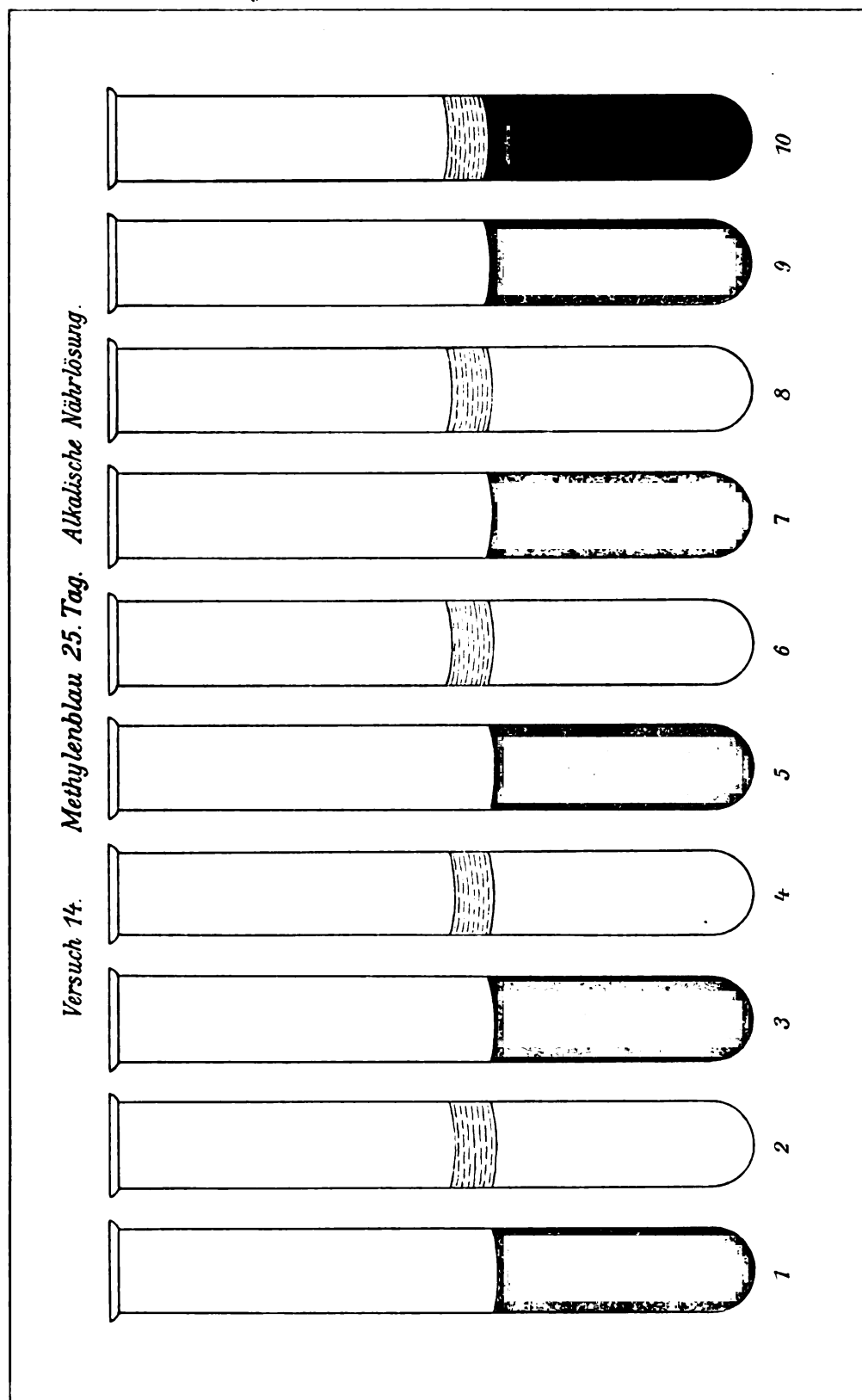
Der Vorgang spielt sich empirisch wahrscheinlich folgendermaßen ab:



Bei Bestimmung der Nitratreduktion durch TiCl_3 unter Anwendung von Diphenylamin als Indikator fand man ca. 0,01 mg $\text{NO}_3 = 0,18$ mg TiCl_3 , theoretisch war nach obiger Formel 0,01 mg $\text{NO}_3 = 0,13$ mg TiCl_3 .

Vielleicht sind die beschriebenen Erscheinungen, wonach Nitrit die Reduktion von Methylenblau durch Titantrichlorid aufhebt, Nitrat aber nicht, während doch letzteres auch von Titantrichlorid reduziert wird, am einfachsten dahin zu verstehen, daß am leichtesten Nitrit, schwerer Methylenblau, noch schwerer Nitrat mit Titantrichlorid reagiert.

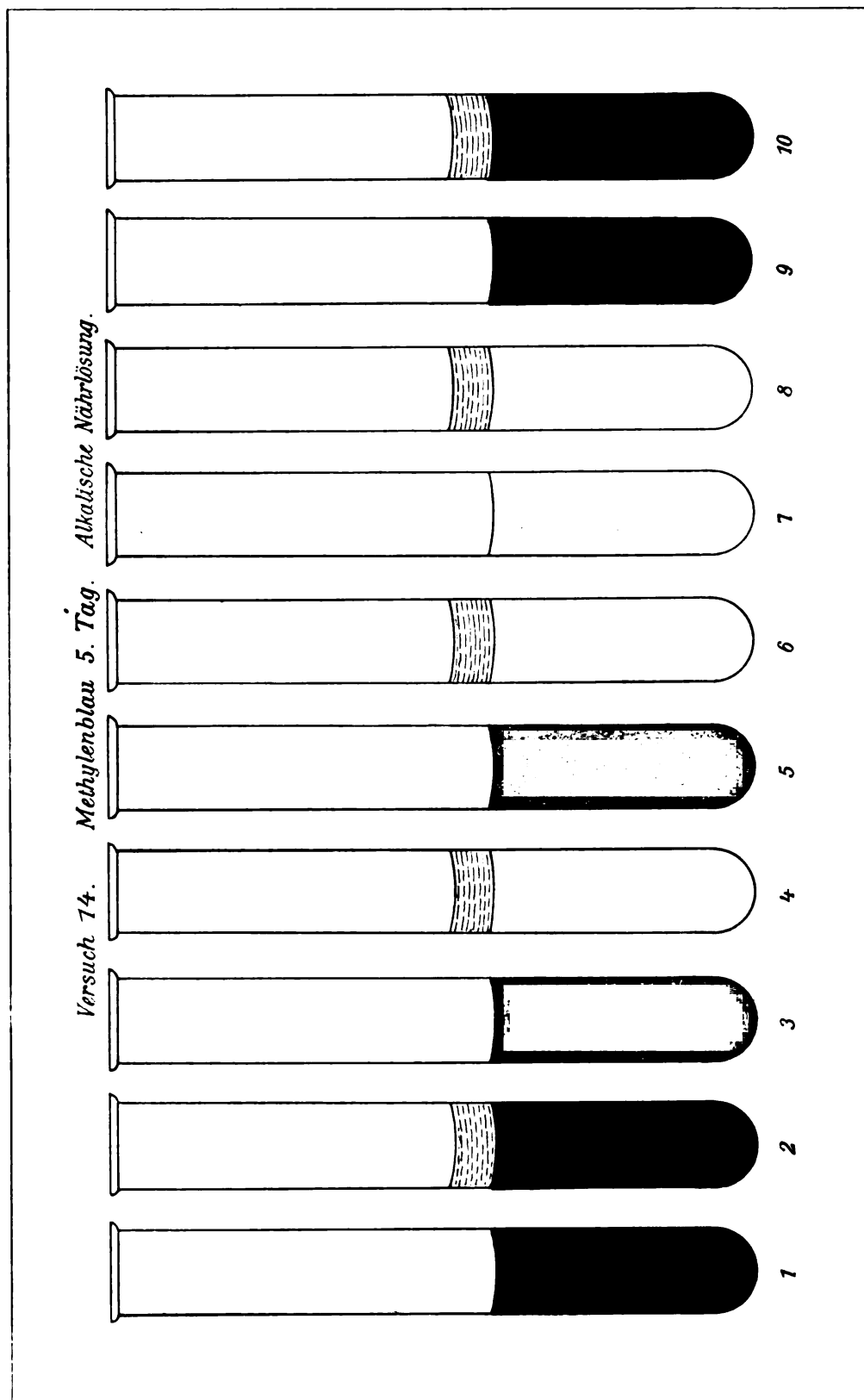
¹⁾ Nach der Methode von Schlösing bei den von Wichers und Seydel im hiesigen Institut ausgeführten Versuchen (s. Zeitschr. f. ang. Chem. 1911).



Fred gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

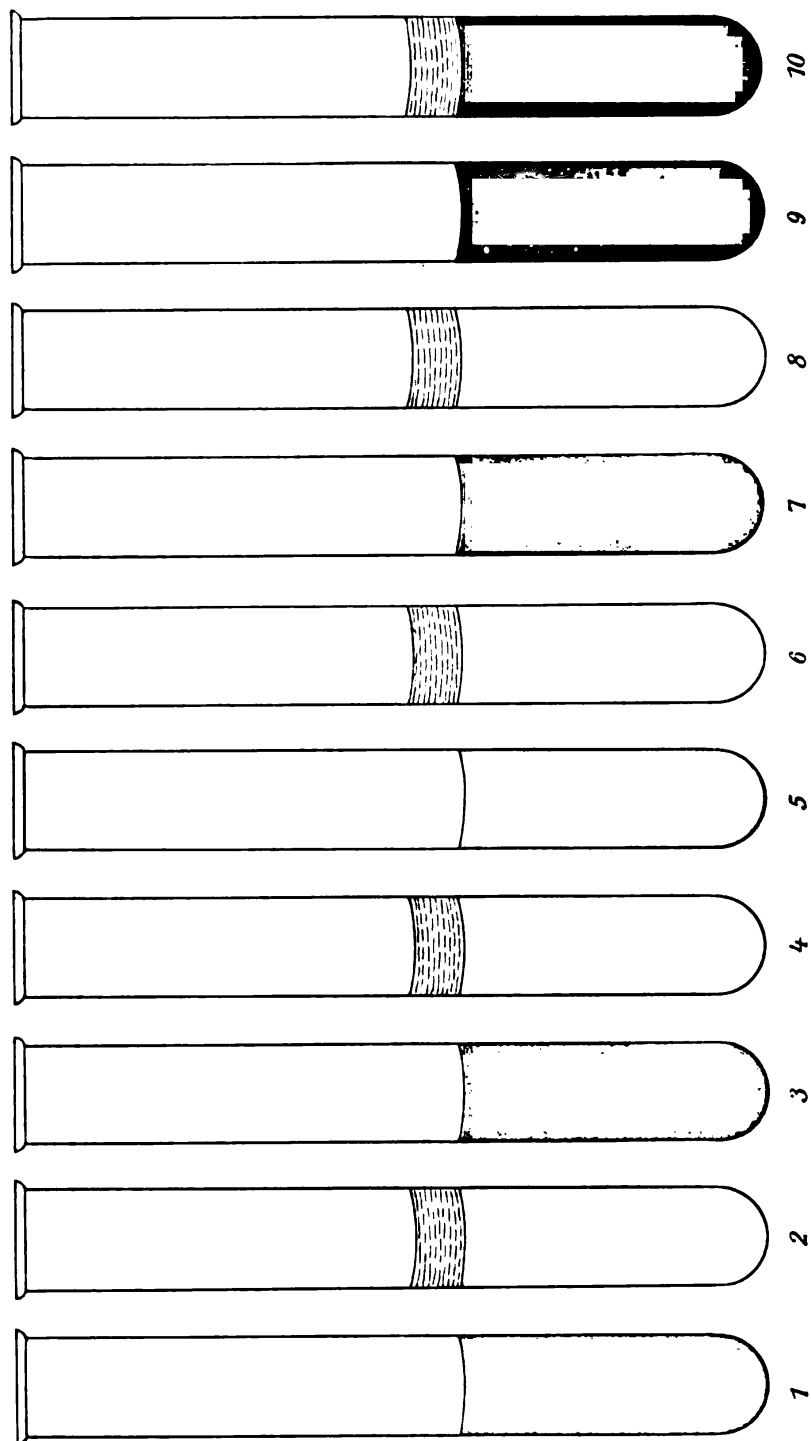


Fred gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Lakmus 25. Tag.

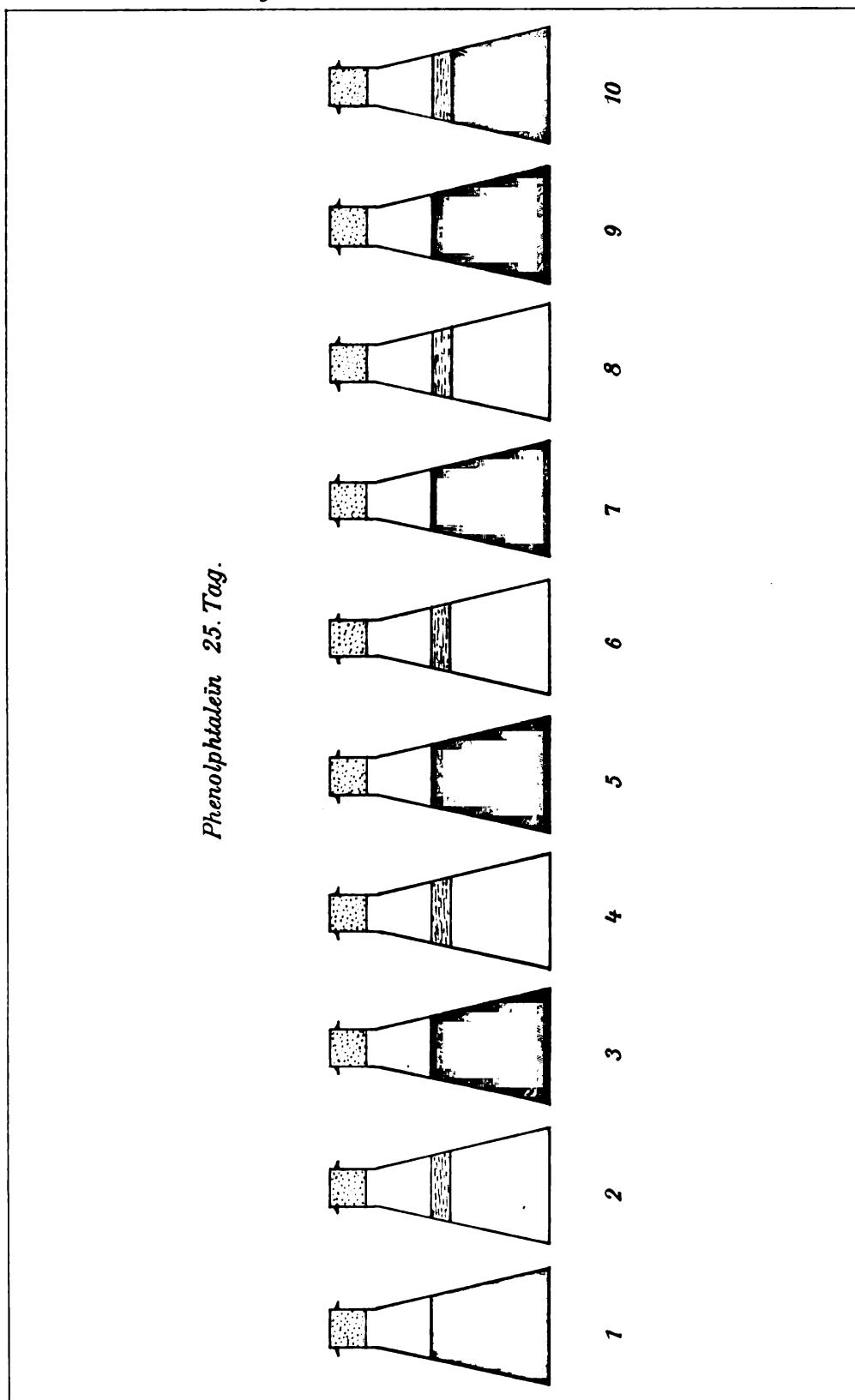


Fred gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Phenolphthalein 25. Tag.

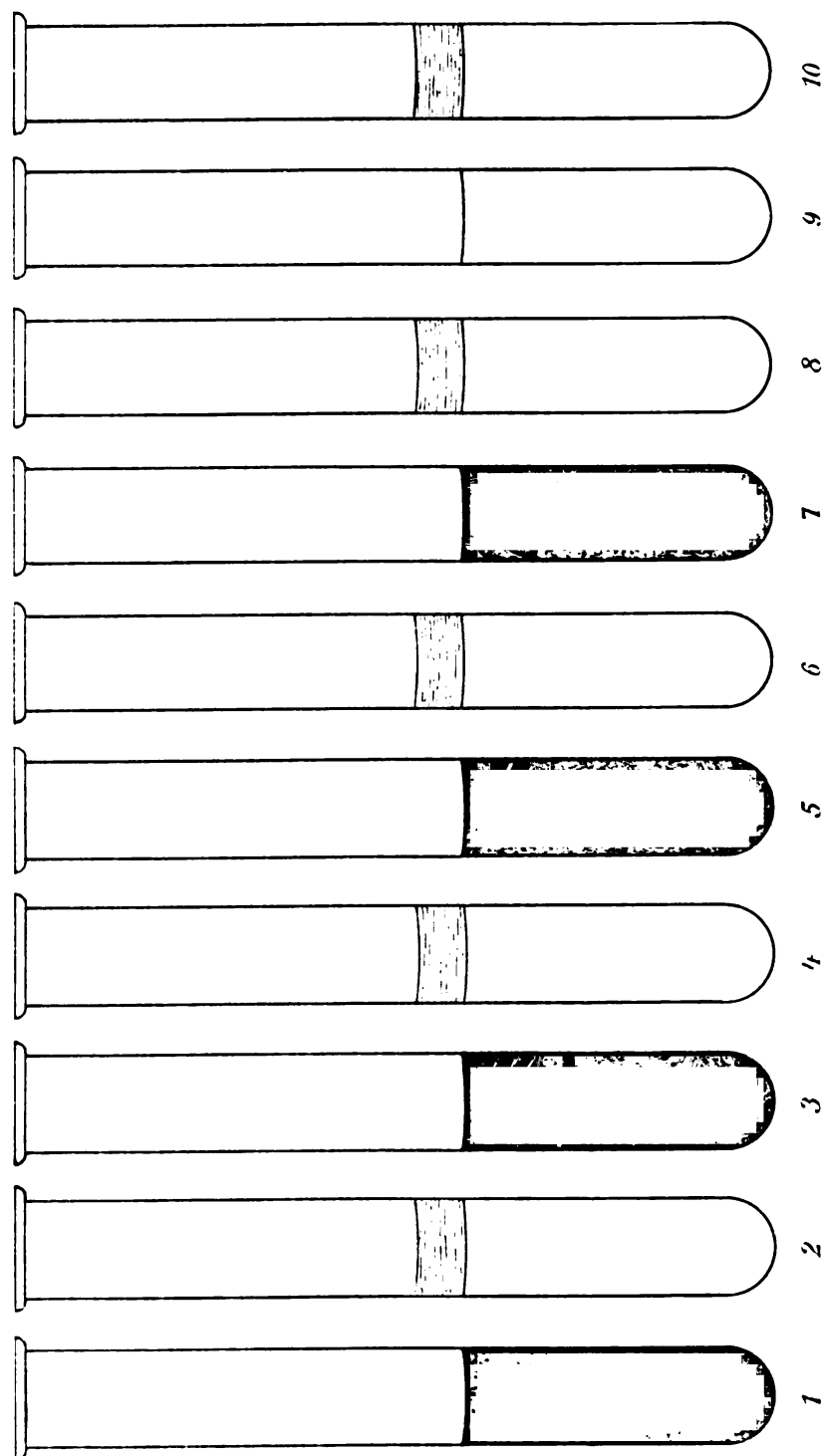


Fred gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Phenolphthalein 25 Tng. Saure Nährlösung.

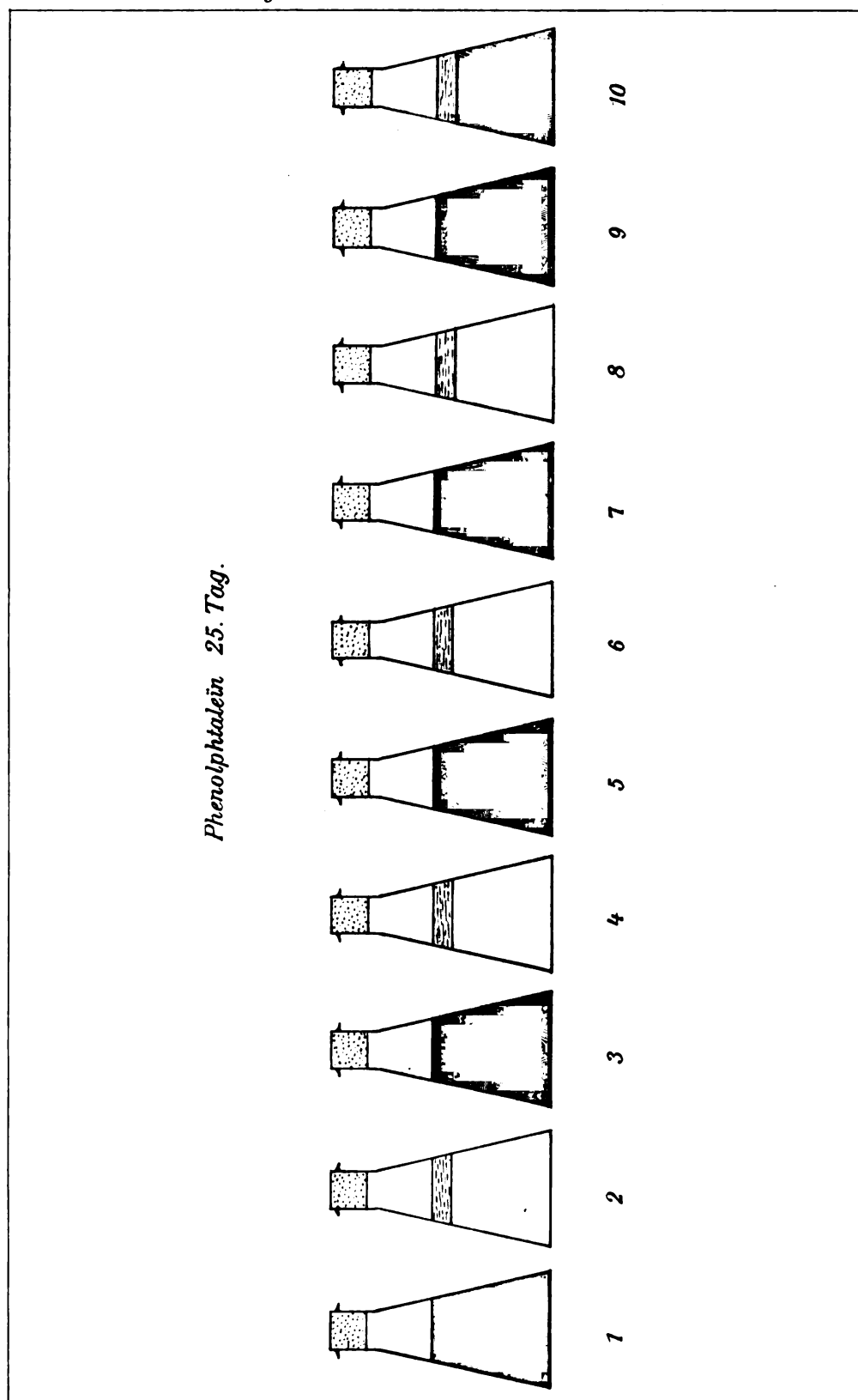


Frederick

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Phenolphthalein 25. Tag.



Fred gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Tafelerklärung (für alle Tafeln gültig).

- Fig. 1. *B. Hartlebi*.
- Fig. 2. *B. Hartlebi* mit Paraffin.
- Fig. 3. *B. pyocyaneus*.
- Fig. 4. *B. pyocyaneus* mit Paraffin.
- Fig. 5. *B. fluorescens liqu.*
- Fig. 6. *B. fluorescens liqu.* mit Paraffin.
- Fig. 7. *B. denitrificans*.
- Fig. 8. *B. denitrificans* mit Paraffin.
- Fig. 9. Kontrolle.
- Fig. 10. Kontrolle mit Paraffin.

Nachdruck verboten.

Noch einmal Azotogen, Nitragin und Naturimpferde.

Erwiderung von Hjalmar von Feilitzen-Jönköping.

Erst vor einigen Tagen habe ich in einer Zeitschrift¹⁾ gelesen, daß Dr. A. Kühn im Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. II. Bd. 29, 1911, Nr. 21/24 meine diesbezüglichen Versuche einer Kritik unterzogen hat. Da ich leider das geschätzte Centralblatt bis jetzt nicht besitze, habe ich nicht früher antworten können.

Ich muß wirklich gestehen, daß der Inhalt dieser Kritik mir etwas sehr stark vorkam.

Mit aller Gewalt sucht der Inhaber der Nitraginfirma aus natürlichen Gründen meinen Versuchen jeden Wert abzusprechen und überall grobe Fehler und Verstöße gegen die Versuchsanstellung aufzufinden, um das für sein Präparat weniger günstige Ergebnis zu erklären, und um zu keinem weiteren Meinungsaustausch Veranlassung zu geben, benutzt er den einfachen Weg, die Angelegenheit seinerseits als erledigt zu erklären.

Meinerseits ist die Sache aber durchaus nicht erledigt, und ich fühle es als meine Pflicht, die gemachten Vorwürfe zu erklären und zurückzuweisen.

In der Antwort folge ich der Kritik des Herrn Dr. Kühn und will versuchen, Punkt für Punkt die nötigen Erklärungen zu geben.

1. Zuerst bemängelt Dr. K., daß ich flüssiges Nitragin mit Erdkultur von Azotogen verglichen und nicht beide als Reinkulturen bzw. Erdkulturen benutzt habe.

Dieser Vorwurf ist sehr leicht zu beantworten. Mir lag daran, die beiden damals (im Frühjahr 1910) im Handel vorhandenen künstlichen Impfpräparate zu erproben. Daß später auch die Nitraginfirma Erdkulturen verkauft hat, hat also mit meinen Versuchen gar nichts zu tun. Herr Dr. Kühn meint, ich hätte mich bei der Firma „über den Stand der Dinge erkundigen müssen, um jeglichen Fehler zu vermeiden.“ Aber worüber eigentlich? Die Firma hat selbst gebeten, daß ich die Nitraginversuche wiederholen möchte und hat die nötigen Kulturen zur Verfügung gestellt. Weitere Erkundigungen waren wohl nicht nötig. Ich frage nur, ob Herr Dr. K. sich beim Düngerehändler erkundigen würde, wie er einen eventuellen Düngungsversuch anzustellen hätte?

2. Was dann zweitens die Kulturen mit den sog. Beibakterien betrifft, wobei Herr Dr. K. mich des Vertrauensbruches schuldig machen will, so muß ich gestehen, daß ich dies so verstanden habe, eine Veröffentlichung müsse

¹⁾ Zeitschr. f. d. landw. Versuchswes. in Österr. 1911. p. 1132.

unterbleiben, bis anderswo etwas über diese Bakterienkulturen publiziert würde.

Nun hat aber Professor Dr. Hiltner selbst in der „Illustrierten landw. Zeitung“ im Sommer 1910 über Versuche mit Beibakterien für *Serradella* berichtet, die „trotz der überaus ungünstigen Witterung für das Wachstum der *Serradella* doch schon eine Anzahl günstiger Resultate gezeitigt haben,“¹⁾ weshalb ich keinen Grund sehen konnte, das Ergebnis des von mir angestellten Versuches den Lesern vorzuenthalten.

3. Bei dem Topfversuch mit Soyabohnen hat Herr Dr. K. vieles auszusetzen. Aus der Literatur war es mir wohl bekannt, daß die Soyabohne als nicht infektionsfähig für andere Knöllchenbakterien als gerade diejenigen, die von derselben Pflanze stammten, galt, und gerade deswegen hatte ich diese Pflanze gewählt, um sicherer gegen unliebsame Infektion zu sein, die vielleicht doch, trotz aller Vorsicht, eintreten könnte.

Wenn also die „völlige“ Unkenntnis mit der Pflanze (die Zitate des Herrn Dr. K. sind, wohl um besseren Eindruck zu machen, etwas ausgeschmückt) nicht ganz absolut war, so dachte ich mir doch, daß man einen Versuch machen könnte, um zu sehen, ob sich dies auch hier für die Gartenbohne bestätigen würde, weshalb ich dies nicht als einen so schwerwiegenden Vorwurf betrachten kann, wie es Herr Dr. K. macht.

Und dann der „gewaltige Verstoß gegen die Hauptgesetze der Sterilität“, der daraus erhellt, daß ich die Töpfe, worin die Samen verfaulen, nicht einfach ausschaltete, sondern nur nochmals nachbaute.

Dazu will ich nur folgendes erklären: Der Boden, ein fast unzersetzter *Sphagnum*-Torf, wurde nicht steril gemacht, um nicht denselben in irgend einer Weise zu verändern, da wir doch aus Erfahrung wußten, daß er fast ganz frei von Knöllchenbakterien war. Jetzt ist bekanntlich ein solcher Boden in seinem natürlichen Zustande ziemlich reich an Pilzen, was wohl zu dem Verfaulen der Samen beigetragen haben möchte.

Übrigens war das Verfaulen in sämtlichen Töpfen ungefähr gleich, weshalb sämtliche Impfmittel darunter zu leiden hatten.

„Um den Wert der v. Feilitzenschen Arbeiten in der richtigen Weise zu charakterisieren“ bemängelt der Verf. auch, daß ich mit Leitungswasser und nicht mit sterilem Wasser begossen habe.

Ja, jedenfalls wäre das sicherer gewesen, aber trotz der „völligen Unkenntnis“ behauptete ich — und ich behaupte es noch — daß das Leitungswasser in Jönköping keine Soyabohnenbakterien enthielt, weshalb die Sterilisation ziemlich überflüssig war.

In demselben Zusammenhang kann Herr Dr. K. nicht umhin, um meine Arbeitsweise noch verdächtiger und wertloser erscheinen zu lassen, mitzuteilen, daß ich im Jahre 1909 einen Impfversuch im freien Felde in Flahult ausgeführt habe, „wobei neben anderen Fehlern die Düngung mit verschiedenen Salzen, die doch bekanntlich schon durch ihre ätzende Wirkung einen ungünstigen Einfluß auf das Bakterienwachstum ausüben, gleichzeitig mit der Impfung vorgenommen wurde.“

Herr Dr. K. verschweigt aber, daß ein besonderer, zur Klärung der Frage über die Einwirkung der verschiedenen Zeit der Kalkung und Düngung im Verhältnis zur Impfung (siehe diese Zeitschr. Bd. 29, 1911, p. 204) ausge-

¹⁾ Die Impfung von Kulturpflanzen mit Bakterien. (Refer. in Mitteil. d. Ver. z. Förder. d. Moorkul. i. Deutsch. Reiche. 1910. p. 223.)

fürher Versuch gezeigt hat, daß die Wirkung nicht besser war, wo 3 Wochen verstrichen waren zwischen Düngung und Impfung, als wo sie unmittelbar nach einander ausgeführt wurden.

4. Dann zu den Feldversuchen im Jahre 1910.

Hierbei macht sich Herr Dr. K. zuerst darüber lustig, daß zur Vermeidung der Infektion Geräte und Stiefel, Hände und „Kleider,, der Arbeiter mit feuchtem Moostorf gereinigt wurden. Daß diese Desinfektion nicht völlig sicher war, gebe ich zwar zu, aber es kam ja dabei auf Feldversuche an, wobei nur n a c h M ö g l i c h k e i t sauber gearbeitet werden sollte. Das Kleiderreinigen hat Herr Dr. K. mißverstanden. Ich meinte damit nur, daß die unteren Teile der Hosen und der Rockärmel, kurz diejenigen Teile der Kleidung, die womöglich mit den Geräten in Berührung kommen konnten, in dieser Weise gereinigt wurden.

Betreffs der Soyabohnen gebe ich zu, daß der Versuch infolge Hasenfraß mißlungen war, aber nichtsdestoweniger konnten sowohl ich als der Inspektor auf unserer Versuchswirtschaft bei der Besichtigung konstatieren, daß die Bohnen auf den Azotogenparzellen kräftiger standen, als auf den übrigen, trotz des absprechenden Urteils des Herrn Dr. K.

Denselben Vorwurf macht der Verf. gegen die Versuchspartzen; „dieselben sollten nicht für den Zweck einwandfrei genug sein, oder die Ausführung der Impfarbeiten ließ, was Korrektheit anbelangt, sehr zu wünschen übrig.“ „Sonst wären keine Knöllchen auf den ungeimpften Partzen mit Serradella vorgekommen.,,

Es ist wirklich merkwürdig, was alles Herr Dr. K. an meinen Versuchen auszusetzen hat, da er sonst jedem beliebigen von Bauern u. a. ohne jegliche Vorsichtsmaßregeln ausgeführten Versuch in den Reklameschriften mit Freude aufnimmt und als richtig ansieht, wenn das Resultat zugunsten der Nitraginimpfung ausfällt.

Was helfen hier alle Mitteilungen über objektive Beobachtungen, wenn sie nur in den Verdacht kommen, sie wären nicht richtig gemacht oder wiedergegeben?

Ich überlasse es den Lesern, nach nochmaliger Durchsicht meines Aufsatzes das Urteil zu bilden.

Was schließlich das Verfahren der Nitraginfirma, Photographien von Versuchen mit besonders auffallenden Nitraginerfolgen zu erwerben und entsprechend zu honorieren, betrifft, so sind darüber die Ansichten der Firma und der Wissenschaftler, wie ich von verschiedenen Seiten brieflich und mündlich erfahren habe, grundverschieden.

Ich hoffe, daß die teilweise ungünstigen Erfahrungen, die wir bis jetzt mit den Nitraginkulturen gemacht haben, durch die Einführung der sog. Erdkulturen völlig beseitigt werden, und daß wir also darin ein für alle Fälle sicheres und wenig empfindliches Impfmateriel zur Hebung der Leguminosen-ernten auf Neukulturen erhalten werden.

*Nachdruck verboten.***Zur Biologie der Liliaceen bewohnenden Uredineen.**

(Vorläufige Mitteilung.)

[Aus dem botanischen Institut Bern].

Von *Werner Schneider*, Bern.**I. *Uromyces Scillarum* (Grev.) Winter.**

Nach der Zusammenstellung von P. und H. Sydow¹⁾ ist *Uromyces Scillarum* auf mehreren *Muscari* und *Scilla*-Arten, sowie auf einigen anderen Liliaceen beobachtet. Es lag nun nahe die Frage aufzuwerfen, ob nicht hier eine Spezialisierung vorliegt. Zu dem Ende führte ich einige Infektionsversuche aus mit Teleutosporen, die von *Muscari racemosum* stammten. Als Endresultat ergab sich reichliche Infektion auf *Muscari racemosum*, während *Muscari botryoides*, *comosum* und *Scilla bifolia* stets sich immun verhielten. Bei der Untersuchung ergaben sich aber noch einige weitere Eigentümlichkeiten von *Uromyces Scillarum*:

1. Die Keimung der Teleutosporen und Infektion der Wirte findet nicht nur im Frühjahr nach Überwinterung statt, sondern es keimen im Frühjahr entstandene Teleutosporen auch schon im darauffolgenden Herbst und bringen in dieser Jahreszeit wieder Teleutosporen hervor. Ferner können die Teleutosporen auch sofort keimen.

2. Die Teleutosporen von *Uromyces Scillarum* besitzen keine Keimporen; der Keimschlauch tritt durch eine Membranspalte aus. Es ist dies bisher noch bei keinem Vertreter von *Uromyces* oder *Puccinia* beobachtet worden und dürfte an die Keimungsverhältnisse der meisten Ustilagineen erinnern.

II. *Puccinia Schroeteri* Passerini.

Der Pilz ist auf *Narcissus radiiflorus* beobachtet und wurde in neuerer Zeit von Prof. Dr. Ed. Fischer auch auf *Narcissus pseudonarcissus* gefunden. Infektionsversuche mit Teleutosporen, die von *Narcissus radiiflorus* stammten, ergaben auf *N. pseudonarcissus* positive Infektionserfolge.

III. *Puccinia Allii* (D.C.) Rudolphi.

Für *Pucc. Allii* werden von Sydow²⁾ 27 *Allium*-Arten als Wirte angegeben. Infektionsversuche, die ich mit Rücksicht auf die Frage nach der Spezialisierung ausführte, ergaben meist nur schwache Resultate: Mit Teleutosporen, die von *Allium sphaerocephalum* kamen, erhielt ich Uredolager auf *All. sphaerocephalum*, *sativum*, *hymenorrhizum*, *oleraceum* und *fistulosum*. — In einem der mit Teleutosporen ausgeführten Versuche entstanden aber auf *All. sativum* neben vielen Uredolagern auch Pykniden und Aecidien.

IV. *Puccinia Porri* (Sow.) Winter.

Infektionsversuche mit Uredosporen, die von *Allium Schoenoprasum* stammten, ergaben reichliche Infektion auf *All. Schoe-*

¹⁾ Monographia Uredinearum. Vol. 2. 1910.

²⁾ Monographie. Bd. 1. p. 614.

noprasm, schwächere auf folgenden Arten: All. ampeloprasum, sphaerocephalum, strictum, montanum, fistulosum, oleraceum und hymenorrhizum. In einem der mit Teleutosporen von Allium Schoenoprasum stammenden Versuche traten auf All. Schoenoprasum Aecidien auf. Das Auftreten dieser Sporenform ist besonders deshalb hervorzuheben, weil Tranzschel¹⁾ nach seinen Versuchen Pucc. Porri als eine Hemiform erklärt hat.

Nachdruck verboten.

Rostige Getreidekörner — und die Überwinterung der Pilzspezies.

Von Prof. Dr. Jakob Eriksson, Stockholm.

Es ist schon längst bekannt, daß in Jahren, die für das Gedeihen der Weizenrostarten besonders günstig sind, in sog. „Weizen-Rostjahren“, in der geernteten Getreideware auch Weizenkörner vorkommen können, die mehr oder weniger verschrumpft sind, ja bisweilen auch in der Kornschale schwarze Strichlein von durchscheinenden Sporensammlungen tragen. Man hat solche Körner als „Rostkörner“ bezeichnet.

Rostige Weizenkörner, wo die Rostart der Gelbrost (*Puccinia glumarum* (Schm.) Erikss. u. Henn.) war, wurden aus Dänemark im Jahre 1863 von Ørsted (I, 107) und von la Cour (I, 137) erwähnt. Ausführlicher wurden die in der Kornschale versteckten Sporensammlungen derselben Rostart aus Schweden im Jahre 1896 von Eriksson und Henning (I, 200, Taf. 9, Fig. 101—107) beschrieben.

Rostige Weizenkörner, wo die Rostart der Schwarzrost (*Puccinia graminis* Pers.) war, wurden im Jahre 1892 aus Indien von Barclay (I, Tab. 316) und im Jahre 1899 aus Nord-Amerika von Carleton (I, 69) besprochen.

Hinsichtlich der Bedeutung solcher Rostkörner in der Ökonomie des Pilzes sind die Meinungen verschieden. Einerseits will man in den Mycelien und Sporensammlungen der betreffenden Körner eine Bildung sehen, wodurch der Pilz von einem Jahre zum anderen fortlebt und die Rostkrankheit auf die Weizenfelder des folgenden Jahres überträgt. Andererseits will man diesen Körnern keine wesentliche Bedeutung weder für die Überwinterung der Pilzspezies noch für das Wiederauftreten der Rostepidemien zuschreiben. Man hält sie nur als eine durch besonders günstige Witterungs- und Wachstumsverhältnisse hervorgetriebene, abnorme Überproduktion des Pilzkörpers. Nach dieser letzten Auffassung, zu welcher ich mich anschließe, sind die aus einer schwer kranken Weizenähre eines Rostjahres stammenden verschrumpften Körner aus dem Gesichtspunkte einer Krankheitsüberführung nicht mehr zu fürchten, als die eventuell gleichzeitig in derselben Ähre vorkommenden vollen Körner oder als die in einem Nicht-Rostjahre geernteten sämtlichen Körner desselben Weizenstammes²⁾. Die

¹⁾ Beiträge zur Biologie der Uredineen. Heft 3. (Arbeit. d. botan. Museums d. Kais. Akad. d. Wissensch. zu St. Petersburg. Lief. 7. 1909.)

²⁾ Man vergleiche die von Eriksson (I, Pl. 4 u. 5) gegebenen photographischen Abbildungen von ganzen Ähren und Ährenerten verschiedenen Jahrgänge von zwei sehr gelbrostempfindlichen Winterweizensorten (Michigan Bronze und Horsfords Perl-Weizen).

ganze Ernte eines solchen Stammes ist gefährlich, nicht infolge der in gewissen Körnern zufällig auftretenden Mycelien- und Sporenbildungen, sondern infolge einer dem Stamme innewohnenden, weit getriebenen Anpassung an den Pilz, einer zwischen den beiden Kontrahenten eingetretenen, innigen Plasmasymbiose (*Mykoplasmatheorie*; Eriksson, VI u. VII).

Jüngsthin ist die Frage von der Bedeutung der rostigen Getreidekörner durch eine Abhandlung von Pritchard (I, 150) wieder eine aktuelle Tagesfrage geworden. Dieser fand in amerikanischen Weizenwaren, speziell von der Sorte Blue Stem Wheat aus South Dakota, schwarzrostbefallene Körner. Solche ausgelesene Körner legte er in Washington, D. C., in Töpfe mit Gartenerde in einem Gewächshause zur Keimung ein und setzte die Töpfe nachher ins Freie hinaus. Die Zeit des Einlegens der Körner und die des Aussetzens der Töpfe ist nicht näher angegeben, nur daß beim Aussetzen der Boden noch gefroren war. Infolge der niedrigen Temperatur gingen die Keimlinge sehr langsam auf. Als die Pflanzen eine Höhe von 10—25 cm („4—10 inches“) erreicht hatten, wurden sie vorsichtig aus der Erde genommen, mit Wasser abgespült und dann ihre unteren, dem Korne angrenzenden Teile — Stamm-, Blatt- und Wurzelteile — zur Fixierung und Einbettung nach dem Flemmingschen Verfahren eingelegt. Bei der mikroskopischen Untersuchung der aus diesen Einlegungen gemachten, gefärbten Mikrotomschnitte fand Pritchard Mycelteile in allen eingebetteten Geweben, nicht nur in Stamm- und Blattteilen, sondern auch in Wurzelteilen, ja auch in den zwischen den untersten Blattscheiden befindlichen offenen Lufträumen. Von diesen Lufträumen aus sandten die Mycelfäden hier und da Äste in die angrenzenden Blattgewebe hinein.

Ich bin davon überzeugt, daß man aus vielen Seiten die seit Jahren viel umstrittene Frage von der Überwinterung des Weizenschwarzrostpilzes durch die referierten Beobachtungen Pritchards als endgültig gelöst erklären soll, und ich glaube, nicht zu irren, wenn ich zugleich annehme, daß man diese Beobachtungen auch für die Erklärung der Überwinterung der anderen Getreiderostarten, ja warum nicht für die der meisten anderen, noch unaufgeklärten Rostarten, ausnützen soll. Besonders dürfte hierbei der in Nord-Europa allgemein verbreitete Weizengelbrost in Betracht kommen, da es schon bekannt ist, daß diese Rostart in schweren Gelbrostjahren ähnliche, Mycelium und Sporensammlungen beherbergende Rostkörner produziert.

Ich fühle mich unter solchen Umständen aufgefordert, gegen jede Überschätzung der an und für sich interessanten Beobachtungen von Pritchard zu warnen.

Die Hauptgründe meiner Bedenklichkeit will ich hier kurz zusammenfassen:

1) Fürs erste will ich daran erinnern, daß schwarzrostbefallene Weizenkörner, wenn sie auch einigemal aus Indien und aus Nord-Amerika erwähnt worden sind, doch überhaupt eine recht seltene Erscheinung zu sein scheinen, und daß sie nur bei einzelnen, besonders schwarzrostempfindlichen Weizensorten beobachtet worden sind. Ich selbst habe in meinen mehr als zwanzigjährigen Kulturen mehrerer Hunderte von Weizensorten solche Körner nie gesehen. Ob solche in anderen europäischen Ländern getroffen worden sind, ist mir unbekannt. Aus Australien, wo der Schwarzrost große Verwüstungen an den Weizenfeldern jährlich anstellt, berichtet MacAlpine (I, 70) im Jahre 1906, daß

„although hundred of seeds have been carefully examined by the microscope, no trace of mycelium has been found“.

In Schweden sind, wie schon oben genannt, gelbrostbefallene sporenführende Weizenkörner einigemal angetroffen. Dieses gilt jedoch nur für einzelne Jahrgänge, in welchen die Witterungs- und Wachstumsverhältnisse für die Entwicklung des Weizengelbrostes in seltenem Grade günstig waren, wie z. B. am Experimentalfältet (Stockholm) in den Jahren 1890 und 1892, und auch da gilt es nur wenige im höchsten Grade gelbrostempfindlichen Weizensorten, wie Michigan Bronze, Horsfords Winter-Perl-Weizen und Landreths Hard-Winter-Weizen. Ob ähnliche gelbrostbefallene, mycelium- und sporenführende Weizenkörner in anderen europäischen Ländern als in Dänemark und Schweden getroffen worden sind, ist mir unbekannt.

Wenn rostige Weizenkörner durch die in denselben verborgenen Mycelien- und Sporenbildungen die Urquelle der im nächsten Sommer auf den Weizenfeldern neuausbrechenden Epidemien des Schwarz- und des Gelbrostes wären, so dürfte sicher das Vorkommen von rostbefallenen Weizenkörnern viel häufiger gewesen sein, als es der Fall zu sein scheint. Es pflegt nämlich nicht in der Natur das Fortbestehen einer Pflanzenart dem reinen Zufalle überlassen zu sein.

2) Zum zweiten will ich darauf hinweisen, daß ich im Laufe vieljähriger Untersuchungen über die Getreideroste Kulturversuche mit verschrumpften und mit vollen Weizenkörnern sowohl im Freien wie in Isolierschränken parallel ausgeführt habe, ohne eine wesentliche Verschiedenheit zwischen den erzeugten Pflanzen, weder in bezug auf die Zeit des Hervortretens der Krankheit an der jungen Saat im Herbst und an der voll entwickelten Pflanze im nächsten Sommer, noch mit Rücksicht auf die Intensität der Epidemie des neuen Jahres, entdecken zu können (Eriksson, I [1901], 99 [223], 7 [131], 16 [140] usw.).

Es hat sich auch nicht gezeigt, daß nach einem vorausgehenden schweren Weizengelbrostjahre die Weizenernte regelmäßig intensiver beschädigt wurde, als nach einem Nicht-Rostjahre. Man vergleiche z. B. die Gelbrostverhältnisse der Winterweizenparzellen am Experimentalfältet (Stockholm) in den Jahren 1891—94 und 1903—04, wie diese Verhältnisse in einer früheren Arbeit (Eriksson, V, 11 usw.) näher beschrieben worden sind. Die Intensität der verschiedenen Ausbrüche — „Herbst-Prolepsis“, „Frühjahrs-Prolepsis“ und „Sommer-Epidemie“ — stellte sich in folgender Weise heraus:

	Herbst- Prolepsis	Frühjahrs- Prolepsis	Sommer- Epidemie
1890—91	stark	schwach	„Nicht-Rostjahr“ (von Mitte Juni ab)
1891—92	stark	schwach	„Rostjahr“, schweres (von Ende Juni ab)
1892—93	stark	schwach	„Fast rostfreies Jahr“ (von Ende Juni ab)
1893—94	stark	schwach	„Rostjahr“, mäßiges (von Ende Mai ab)
1902—03	0	0	„Rostjahr“, mäßiges (von Mitte Juni ab)
1903—04	schwach	stark	„Rostjahr“, mäßiges (von Ende Juni ab)

Noch schärfer tritt der Mangel an direktem Zusammenhang zwischen der Rostigkeit in verschiedenen, nacheinander folgenden Jahren zum Vor-

schein, wenn man eine und dieselbe Weizensorte, z. B. die sehr empfängliche Sorte Michigan Bronze, für eine Reihe von Jahren in Betracht nimmt. Aus den Jahrgängen 1891—1894 erfährt man da folgendes:

	Michigan Bronze		Die maximale Intensität der Sommer-Epidemie erreicht
	Das erste Hervorbrechen des Gelbrostes		
	im Herbst	im Frühjahr	
	am	am	am
1890—91:	9. 10. 90	27. 5. 91	7. 7. 91
1891—92:	24. 10. 91	27. 5. 92	12. 7. 92
1892—93:	6. 10. 92	(29.4.) 19. 5. 93	18. 7. 93
1893—94:	27. 9. 93	(11. 4.) 11. 5. 94	22. 6. 94

Ich habe in einer früheren Arbeit (Eriksson, I, Pl. 4, p. 107 [Sep. 231]) eine photographische Abbildung der Kornernte typischer Ähren der Sorte Michigan Bronze aus den Jahren 1890—93 gegeben. Nach der Aussaat der sehr rostigen Kornware vom Jahre 1890 folgte eine sehr schöne Kornware im Jahre 1891, nach dieser als Aussaat wieder eine sehr schlimme Ernte im Jahre 1892 und nach dieser wiederum eine tadelfreie Ware im Jahre 1893. Wie läßt sich dieses mit der Annahme des Kornmyceliums als direkte Quelle der neuhervortretenden Epidemie vereinigen? Man hätte erwarten müssen, daß mit dem häufigeren Vorhandensein von Rostkörnern nach einem Rostjahre die Voraussetzungen für ein folgendes Rostjahr größer sein sollten, als nach einem Nicht-Rostjahre. Die Erfahrung stützt also nicht diese Annahme, sondern nötigt vielmehr zu der Auffassung, daß es — unter Voraussetzung des Vorhandenseins einer hinreichenden, innewohnenden Rostempfänglichkeit der Weizensorte — wesentlich auf die Witterungs- und Wachstumsverhältnisse im Frühjahr und im Sommer ankommt, ob das Jahr ein Rostjahr oder ein Nicht-Rostjahr wird.

3) Endlich bitte ich, auf die lange rostfreie Periode, die dem großen, normalen Krankheitsausbruche im Sommer vorausgeht, ein besonderes Gewicht zu legen. Das Pilzmycelium an den aus rostigen Weizenkörnern erzogenen Sämlingen fand Pritchard bei Washington, D. C., als die jungen Pflanzen eine Höhe von 10—25 cm erreicht hatten, d. h. etwa einen Monat nach der Körner-saat, wenn das Entsprießen normal stattfindet. Wird dieses auf unsere Verhältnisse überführt, — vorausgesetzt daß schwarzrostige Weizenkörner auch bei uns vorkommen, was noch nicht konstatiert ist, — so hätte man an geeigneten Winterweizen-Keimlingen Schwarzrostmycelium schon Mitte oder Ende Oktober zu warten. Wie läßt sich aber eine solche Annahme mit der sicher festgestellten Tatsache vereinigen, daß der Hauptausbruch des Schwarzrostes an den Winterweizenfeldern bei uns (Stockholm) nicht früher als Mitte Juli des nächsten Jahres eintritt? Zwischen der Mitte Oktober des einen Jahres und der Mitte Juli des darauffolgenden liegt eine Periode von 9 Monaten, in welcher Zeit der Schwarzrost nicht oder fast nicht zu entdecken ist, weder auf Weizen, noch auf anderen Getreidearten oder auf Grasarten. Es kommt freilich in seltenen Fällen vor, daß man im frühen Nachherbste an einzelnen jungen Weizenkeimlingen einige wenige Pustelflecken von *Uredo graminis* antrifft. Dies war z. B. der Fall bei Stockholm im Herbst 1892. Etwa die Hälfte der 95 Winterweizenparzellen zeigte da vereinzelte solche Pusteln am 6. und 17. Oktober. Einige Frosttage waren indessen genügend, diese schwache Herbst-Prolepsis zu unterdrücken. Schon

am 7. November waren an den Parzellen keine Pusteln mehr zu entdecken (Eriksson und Henning, I. 31).

Wenn man die Monate September—Oktober als Keimlingsmonate und die Monate November—März als Winter- und Ruhemonate abrechnet, so bleibt doch immer eine Periode von $3\frac{1}{2}$ Monaten, April—Mitte Juli, übrig, ehe die allerersten Pustelflecken von *Uredo graminis* an unseren Winterweizenfeldern sichtbar werden, und diese ersten Pustelflecken treten nicht an der Basis der Pflanze, sondern an dem 4. bis 5. Internodium von unten, etwa $\frac{1}{2}$ m oberhalb des Erdbodens, auf (Eriksson und Henning, I. 98). Wer die ersten, Mitte Juli hervortretenden Pustelflecken aus einem zufällig an gewissen Keimpflanzen Mitte oder Ende Oktober des vorigen Jahres befindlichen Mycelium ableiten will, der muß auch zeigen, wie und wo sich das Mycelium während der $3\frac{1}{2}$ Vegetationsmonate, April—Mitte Juli, verbirgt.

Mancher wird wohl keck antworten: natürlicherweise als ein vegetatives Mycelium in der allmählich heranwachsenden Weizenpflanze! Ich muß dagegen Protest einlegen, und zwar aus folgenden Gründen.

Um sicher kennen zu lernen, ob in den jungen, überwinternden Wintergetreidepflanzen ein vegetatives Mycelium fortlebt, aus welchem im nächsten Sommer und Herbste der Hauptausbruch der Krankheit herzuleiten ist, machte ich in der Halbjahr-Saison 1902—03 eine Reihe von Einbettungen für eine geplante cytologische Untersuchung. Es war ein sehr glücklicher Zufall, daß eben in dieser Saison keine Spur von Rost, weder Schwarz- noch Gelb- oder Braunrost, auf dem Versuchsfelde auftrat (Eriksson, V, 13). Infolge dieser Zufälligkeit wurden die Resultate der Untersuchung besonders interessant und wertvoll, ja meines Erachtens, vollständig beweisend. Es waren im Ganzen auf dem Versuchsfelde in dieser Saison 45 Weizen- und 6 Roggensorten angebaut, jede Sorte auf einer oder mehreren Parzellen. Von Weizen wurden die Sorten Horsfords Winter-Perl-Weizen, Michigan Bronze und Squarehead-Weizen, von Roggen die Sorte Pirnaer-Roggen ausgewählt. Die Fixierungen geschahen im Jahre 1902 am 6., 14. und 27. Oktober und im Jahre 1903 am 28. April, 29. Mai, 5., 11. und 18. Juni sowie am 4. Juli. Die eingebetteten Teile waren etwa 4 qmm große Blattstückchen (Eriksson, II, 7; III, 6; IV, 27).

Aus diesen Einbettungen wurden Mikrotomschnitte gemacht, gefärbt und Tausende solcher Serien-Schnitte wurden von Tischler und mir mikroskopisch untersucht. Trotz des sorgfältigsten Suchens war es unmöglich, die geringste Spur von Mycelium in den untersuchten Schnitten zu entdecken, weder in den Weizen- noch in den Roggen-Präparaten. Dessenungeachtet trat der Schwarzrost im Hochsommer 1903 wieder auf. Dies geschah am 27. Juni. Es wurden da auf sämtlichen 6 Winterroggen-Parzellen die allerersten Schwarzrostpusteln sichtbar, und zwar nur ein oder ein paar Pustelflecken auf jeder Parzelle. An keiner der 45 Winterweizenparzellen war noch am 11. Juli, d. h. 14 Tage später, eine Spur von Schwarzrost zu entdecken. Diese Form trat zuerst nach dem letztgenannten Tage auf.

Sehr beachtenswert ist auch der Umstand, daß der Schwarzrost auf Sommerweizen regelmäßig noch später hervortritt, obgleich es sicher konstatiert ist, daß der Schwarzrost des Winterweizens auch den Sommerweizen anstecken kann. Nach der Frühjahrssaat in der ersten oder zweiten Woche des Mai folgt regelmäßig eine Reinheitsperiode

von $3\frac{1}{2}$ bis 4 Monaten, ehe der Schwarzrost an den Pflanzen sichtbar wird, auch wenn die beiden Weizensorten ganz nahe bei einander wachsen. Der Sommerweizen wird in der Regel zuerst Mitte August schwarzrostig.

Bei dem Gelbroste ist das Verhältnis insoweit ein anderes, als bei dieser Rostart, wie oben erwähnt, proleptische Krankheitsausbrüche an der jungen Saat regelmäßig auftreten, eine Herbst- und eine Frühjahrs-Prolepsis. Die Herbst-Prolepsis wird indessen durch die eintretende Winterkälte bald unschädlich gemacht, und mit der Frühjahrs-Prolepsis, die in den einzelnen Jahren verschieden früh und intensiv auftritt, trifft das eigentümliche ein, daß die Krankheit im Anfange, während 1—2 Monate, sich nach und nach verbreitet, und danach während 1—3 Wochen mehr und mehr abnimmt, ja bisweilen vollständig weg zu sein scheint (Eriksson, V, 11, Tab. 1). Erst in der dritten oder vierten Woche des Juni geschieht der große Krankheitsausbruch, und von jetzt ab geht die Entwicklung sehr schnell vor sich. Binnen 1—2 Wochen erreicht nun die Krankheit ihr Maximum.

* * *

Auf Grund des hier Angeführten kann ich in dem von Pritchard gefundenen Rostmycelium an der Basis solcher Weizenpflanzen, die von schwarzrostigen Weizenkörnern emporwuchsen, als die Pflanzen eine Höhe von 10—25 cm erreicht hatten, in keiner Weise die Quelle des Hauptausbruches des Schwarzrostes im Hochsommer sehen, und ich kann folglich auch nicht die sehr umstrittene Überwinterungsfrage als durch den genannten Fund befriedigend gelöst betrachten. Das Vorhandensein von Mycelium in den dem Saatkorne angrenzenden Organteilen der zarten Keimpflanze, nicht nur im Stamm und Blatt, sondern auch in der Wurzel, scheint mir an und für sich nichts merkwürdigeres zu sein, als die künstliche Mycelienentwicklung zahlreicher Schmarotzerpilze, wenn dieselben auf geeignetem toten Substrate kultiviert werden, ja in der Tat kaum so merkwürdig wie dieses. Ein Rostmycelium kann im Getreidekorne vorhanden sein. Wenn das Leben in den Geweben des Korns geweckt wird, so erwacht auch das Leben in dem darin wohnenden Mycelium, und dieses wächst aus und verbreitet sich, wo überhaupt Nahrungssubstrat zugänglich ist, in Stamm-, Blatt- und Wurzelgeweben, im sterilen, vegetativen Stadium. Daraus folgt aber nicht, daß ein solches Mycelium bei der Überwinterung der Pilzart eine Rolle spielt.

Experimentalfältet (Stockholm) den 8. November 1911.

Literatur.

- Mac Alpine, I. The Rusts of Australia. Melbourne 1906.
 Barclay, A. I. Rust and Mildew in India. (Journ. of Bot. Vol. 30. London, 1892.)
 Carleton, M. A., I. Cereal Rust of the United States. (U. S. Dep. of Agric., Div. of Veg. Phys. and Pathol. Bull. 16. Washington 1899.)
 la Cour, J. C., I. Sygdomme i kornet og Midlerne derimod. (Tidskr. f. Landoek., København 1863.)
 Eriksson, J., I. Sur l'origine et la propagation de la Rouille des Céréales par la semence. (Ann. d. sc. nat. Bot. Sér. 8. T. 14 et 15. Paris 1901—02.)
 —, II. Über das vegetative Leben der Getreiderostpilze. I. *Puccinia glumarum* (Schm.) Eriks. u. Henn. in der heranwachsenden Weizenpflanze. Von J. Eriksson u. G. Tischler. (Kgl. Vet. Akad.s Handl. Bd. 37. No. 6. Stockholm 1904.)
 —, III. Ibid. II—III. *Puccinia dispersa* Eriks. in der heranwachsenden Roggenpflanze und *Puccinia glumarum* (Schm.) Eriks. u. Henn. in der heranwachsenden Gerstenpflanze. (Ibid. Bd. 38. 1904. No. 3.)

- , IV. Ibid. IV. *Puccinia graminis* Pers. in der heranwachsenden Getreidepflanze. (Ibid. Bd. 39. 1905. No. 5.)
- , V. Zur Frage der Entstehung und Verbreitung der Rostkrankheiten der Pflanzen. (Kgl. Sv. Vet.-Akad. Ark. f. Botanik. Bd. 5. No. 3. Stockholm 1905.)
- , VI. Über die Mykoplasmatheorie, ihre Geschichte und ihren Tagesstand. (Biol. Centralbl. Bd. 30. 1910. No. 18.)
- , VII. Der Malvenrost (*Puccinia Malvacearum* Mont.). (Kgl. Sv. Vet.-Akad.s Handl. Bd. 47. No. 2. Stockholm 1911.)
- , u. Henning, E., I. Die Getreideroste. Stockholm 1896.
- Pritchard, F. J., I. The wintering of *Puccinia graminis* Triticis E. & H. and the Infection of Wheat through the Seed. (Phytopathology. Vol. 1. 1911. No. 5.)
- Ørsted, A. S., I. Om Sygdomme hos Planterne, som foraarsages af Snyltesvampe. Kjöbenhavn 1863.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis des mitteleuropäischen und des nordamerikanischen *Gloeosporium fructigenum*.

[Aus der pflanzenphysiologischen und -pathologischen Abteilung der Schweizerischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil.]

Von O. Schneider-Orelli.

Im Verlaufe von Versuchen über das Wachstum der einheimischen Obstfäulnispilze bei verschiedenen Temperaturen, die ich im Winter 1909/10 durchführte und in denen ich mich auch mit den physiologischen Verhältnissen unseres *Gloeosporium fructigenum* näher befaßte¹⁾, stieg in mir der Wunsch auf, dasselbe eingehender mit lebendem nordamerikanischem Material der gleichen Pilzart vergleichen zu können. Denn es waren mir Zweifel gekommen, ob jenes *Gloeosporium fructigenum*, welches in den Vereinigten Staaten von Nordamerika als Erreger der „bitter-rot“-Krankheit der Apfelbäume eine so außerordentliche praktische Bedeutung erlangt hat, identisch sei mit unserem einheimischen, unvergleichlich harmloseren Obstfäulnispilze gleichen Namens.

Der in der Union durch den „bitter-rot“ verursachte Verlust an der Apfelernte soll jährlich mehrere Millionen Dollars (pro 1900 sogar 10 Millionen) betragen²⁾; dazu ist der amerikanische Pilz nicht auf die Früchte beschränkt, sondern befällt auch die Zweige der Apfelbäume und erzeugt hier charakteristische Krebserscheinungen. Unser mitteleuropäisches *Gloeosporium fructigenum* dagegen infiziert, soviel wir bis jetzt wissen, nur die Früchte und erreicht als Apfelverderber bei weitem nicht die Bedeutung der hier viel bekannteren *Monilia fructigena*. So ist es verständlich, daß, während in der nordamerikanischen Fachliteratur schon eine große Anzahl umfangreicher Publikationen über die Biologie und die Bekämpfung von *Gloeosporium fructigenum* erschienen ist, dieser Pilz die europäischen Forscher noch relativ wenig beschäftigte, und Bekämpfungsversuche hier noch gar nicht notwendig erschienen.

Die Freundlichkeit einiger nordamerikanischer Fachgenossen ermöglichte es mir, im Laufe dieses Jahres nun die vergleichenden Untersuchungen,

¹⁾ Versuche über die Wachstumsbedingungen und Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1911. p. 225—246).

²⁾ Scott, W. M., The control of apple bitter-rot (M. S. Departm. of Agricult. Bureau of Plant Industry-Bullet. Nr. 93. 1906. p. 7).

über welche ich im folgenden kurz berichte, mit lebendem *Gloeosporium fructigenum*-Material durchzuführen. Ich bin deshalb Herrn C. L. Shear, Pathologist am U. S. Department of Agriculture in Washington, und den Herren Prof. Forbes und Dr. J. Barrett an der University of Illinois für die Überlassung von Reinkulturen des nordamerikanischen *Gloeosporium fructigenum* zu großem Danke verpflichtet.

Bevor ich aber näher auf die eigenen Versuche eingehe, möchte ich in einem kurzen historischen Rückblicke den Stand der *Gloeosporium fructigenum*-Frage skizzieren. Der Name *Gloeosporium fructigenum* stammt von Berkeley¹⁾, welcher im Jahre 1856 einen Fäulnispilz auf unreifen Äpfeln in England so benannte, dessen Konidien 20—30 μ lang und 5—6 μ breit waren. 1859 beschrieb der gleiche Autor²⁾ einen ähnlichen Fäulniserreger auf Pfirsichen und Aprikosen, dessen Konidien durchschnittlich 30 μ lang waren und benannte ihn *Gloeosporium laeticolor*. Und 1874 fanden Berkeley und Curtis³⁾ ein *Gloeosporium* auf nordamerikanischen Äpfeln mit Konidien von 12,2—24,4 μ Länge, das sie *Gloeosporium versicolor* benannten. 1891 vertrat Miß Southworth⁴⁾ die Anschauung, daß alle die genannten und auch ein weiteres von Berkeley⁵⁾ schon 1854 auf Weintrauben in England gefundenes *Gloeosporium* (*Septoria*) *rufomaculans* unter sich und mit dem bitter-rot-Pilz identisch seien, und Clinton⁶⁾ fand dann 1902 auch die Ascusfruktifikation, nach der nun der Pilz in der nordamerikanischen Literatur gewöhnlich als *Glomerella rufomaculans* Sp. et Schr. bezeichnet wird.

Clinton⁷⁾ gibt für die Konidien des nordamerikanischen *Gloeosporium fructigenum* 10—28 μ und 3,5—7 μ Breite an, als häufigste Werte 12—16 : 4—5 μ . Scott⁸⁾ fand später 10—15 : 4—5 μ . Wie wir sehen, stimmen diese Zahlen besser mit den Maßen für *Gloeosporium versicolor* als mit Berkeleys Angaben für *Gloeosporium fructigenum* (20—30 : 5—6 μ) überein. Dagegen fand Saccardo⁹⁾ auf faulenden Birnen bei Treviso in Oberitalien ein *Gloeosporium fructigenum*, dessen Konidiengröße mit den Maßen in Berkeleys Beschreibung übereinstimmte. Doch sind dies meines Wissens die einzigen Fälle, wo *fructigenum*-Konidien von einer solchen Größe beobachtet wurden, denn die späteren europäischen Angaben ent-

¹⁾ Gardeners Chronicle. 1856. p. 245. Der betreffende Jahrgang dieser Zeitschrift war mir nicht zugänglich; vergl. die nächste Anmerkung.

²⁾ Diese und die folgenden Angaben über Berkeleys Untersuchungen entnehme ich dem Buche von Thümen, Die Pilze und Pocken auf Wein und Obst. Ausgabe in einem Band. Berlin, 1885. Für *Gloeosporium fructigenum* vergl. III. Teil p. 59—60, für *G. laeticolor* siehe l. c. III. Teil p. 57—58. In Rabenhorsts Kryptogamenflora. 2. Aufl. VII. Abt. 1903. p. 487 sind andere Längenmaße für die Konidien angegeben.

³⁾ Thümen, l. c. p. 60—61. Die Längenmaße sind dort in englischen Zoll angegeben.

⁴⁾ Journ. of Mycol. VI. 1891. p. 164—173.

⁵⁾ Thümen, l. c. p. 61—63.

⁶⁾ Apple rots in Illinois Ill. Agr. (Expe. Sta. Bull. Nr. 69. 1902).

⁷⁾ Referat in Hollrung, Jahresber. üb. d. Gebiet d. Pflanzenkrankh. Bd. V. Das Jahr 1902.

⁸⁾ Scott, l. c. p. 10.

⁹⁾ Thümen, l. c. III. p. 59—61.

sprechen wieder den nordamerikanischen Maßen, so daß es immerhin möglich wäre, daß unser heutiges *Gloeosporium fructigenum* nicht mit dem von Berkeley und Saccardo beobachteten identisch ist.

In biologischer Hinsicht stellten Impfversuche in Illinois¹⁾ aus dem Jahre 1902 den Zusammenhang zwischen dem Krebs der Apfelzweige und der bitter-rot-Fäule fest, indem nachgewiesen werden konnte, daß in beiden Fällen der gleiche Pilz der Urheber ist. Nach Versuchen von Cobb²⁾ erzeugt ein und dasselbe *Gloeosporium fructigenum* ähnliche Fäulnisercheinungen beim Impfen auf Pfirsiche, Pflaumen, Birnen, Kirschen, Trauben, Bananen, Datteln, Quitten, Äpfel, Tomaten u. a. m.

Bemerkenswert sind auch die Versuchsergebnisse von Shear und Wood³⁾, welche in Fortsetzung früherer derartiger Versuche zu *Gloeosporium*- und *Colletotrichum*-Arten auf acht verschiedenen Wirtspflanzen die Askusfruchtkörper züchteten und nun unter dem Namen *Glomerella rufomaculans* Sp. et Schr. alle diese Formen als Varietäten einer einzigen Art zusammenfassen, da weder die Konidien noch die Askosporen genügende morphologische Unterschiede aufweisen. Die Konidien fanden sie in Form und Größe sehr variabel und bestimmten letztere zu 10–25 : 3,5–6 μ .

Der erste, welcher *Gloeosporium fructigenum* in Mitteleuropa auffand, war Sorauer⁴⁾, der im Jahre 1886 auch schon Äpfel durch künstliche Infektion mit diesem Pilze zum Faulen brachte. Er gibt an, daß dieses *Gloeosporium* „mehr zu *Gloeosporium versicolor* hinneigte“, woraus sich schließen läßt, daß die Konidien seines Pilzes nicht mit Berkeleys, sondern mit dem nordamerikanischen *Gloeosporium fructigenum* übereinstimmten. 1899 beobachtete auch Aderhold⁵⁾ den Pilz als Fäulniserreger an Lageräpfeln und legte von demselben Reinkulturen auf Gelatine an. Leider gibt er für die Konidien keine Maße an. Osterwalder⁶⁾ fand 1903 in der Schweiz *Gloeosporium fructigenum* als Fäulniserreger an Kirschen; er bestimmte die Größe der Konidien hier und auch auf faulenden Äpfeln zu 14,6 : 4,9 μ (die Länge erreichte selten 19–20 μ) und machte auch nachdrücklich auf den Unterschied zwischen den von ihm gefundenen Maßen und den Angaben Berkeleys und Saccardos aufmerksam.

Ähnliche Maße geben ferner Lüstner⁷⁾ und Laubert⁸⁾ für die Konidien des auch von ihnen als Fäulniserreger beobachteten Pilzes an.

Die Askusfruktifikation des mitteleuropäischen *Gloeosporium*

¹⁾ Burrill u. Blair, Ill. Agr. Exp. Sta. Circ. 58 u. Bull. 77. 1902.

²⁾ Referat in Hollrung, Jahresber. üb. d. Gebiet d. Pflanzenkrankh. Bd. II. Das Jahr 1903.

³⁾ Ascogenous forms of *Gloeosporium* and *Colletotrichum*. (The Botan. Gazette. Vol. 43. 1907. p. 259–266.)

⁴⁾ Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 2. Aufl. Bd. 2. 1886. p. 423 und Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten. Stuttgart 1900. p. 76u. 77.

⁵⁾ Zentralbl. f. Bakt., etc. Abt. II. Bd. 5. 1899. p. 522 u. 523.

⁶⁾ *Gloeosporium*-Fäule bei Kirschen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. p. 225–226) und Zur „Bitterfäule“ oder *Gloeosporium*-Fäule der Äpfel. (Deutsche Obstbauzeitg. 1910. p. 293–294).

⁷⁾ *Gloeosporium*-Fäule an Kirschen. (Ber. d. Lehranst. Geisenheim a. Rh. f. d. Etatsj. 1907. p. 324.)

⁸⁾ Die „Bitterfäule“ oder *Gloeosporium*-Fäule der Äpfel. (Deutsche Obstbauzeitg. 1910. p. 175–179.)

fructigenum ist bis jetzt noch nicht aufgefunden worden; doch stimmen die übrigen morphologischen Angaben über den nordamerikanischen und den mitteleuropäischen Pilz so gut überein, daß man die beiden bisher wohl allgemein als identisch ansah. Darauf deutet wenigstens auch die einzige Stelle in der *Gloeosporium*-Literatur, welche meines Wissens diesen Punkt überhaupt diskutiert, indem Laubert¹⁾ hier die Ansicht äußert, „daß die klimatischen Verhältnisse bei uns dem Pilz nicht recht genügen; denn die Sommertemperaturen der Teile Nordamerikas, in denen der Schädling besonders verheerend vorkommt, entsprechen mehr denjenigen Südeuropas als denjenigen Deutschlands“. In einer Anmerkung ist noch beigefügt: „Falls man nicht annehmen will, daß der amerikanische und der europäische bzw. deutsche Pilz zwei verschiedene Rassen sind.“

Ich gehe nun zu den eigenen Versuchen über. Die beiden nordamerikanischen, mir zur Verfügung stehenden *Gloeosporium fructigenum* sollen im nachstehenden nach der Herkunft ihrer Reinkulturen als *Gloeosporium fructigenum* von Washington und *Gloeosporium fructigenum* von Illinois unterschieden werden; mit ihnen vergleiche ich ein schweizerisches *Gloeosporium fructigenum*, welches ich im Winter 1910/11 aus einem faulen Apfel in Wädenswil isolierte und das in morphologischer und physiologischer Hinsicht vollständig mit dem schon früher untersuchten *Gloeosporium fructigenum* von Lageräpfeln übereinstimmte. (Vergl. meine eingangs zitierte Publikation.) Von großem Interesse ist auch die briefliche Angabe von Herrn C. L. Shear, daß die mir übermittelte Reinkultur von Washington, die ebenfalls aus einem faulen Apfel her stammt, schon wiederholt Fruchtkörper mit Asci produzierte.

Vor Beginn der eigentlichen Versuche züchtete ich die drei verschiedenen Kulturen, das schweizerische und die beiden nordamerikanischen *Gloeosporium fructigenum* während eines Monats auf Birnsaftgelatine bei 19—20° C, um so ein Vergleichsmaterial mit möglichst übereinstimmender Vorbehandlung zu erhalten. Die mikroskopische Prüfung ergab schon hier, wenn nicht gerade Identität der drei Kulturen, doch eine große Ähnlichkeit in morphologischer Hinsicht. Die Pilze wurden nachher auch auf zahlreichen anderen Substraten gezüchtet, auf Mostoagar, Hefeauszugagar, auf feuchtem Getreidemehl, Kartoffelstücken, Apfel- und Buchenholz und unreifen, reifen und überreifen Äpfeln und Birnen. Gestützt auf diese Kulturversuche möchte ich als einzigen einigermaßen in Betracht fallenden morphologischen Unterschied zwischen dem schweizerischen und dem amerikanischen *Gloeosporium fructigenum* erwähnen, daß ersteres durchschnittlich etwas größere Konidien produziert von meist 13—18 μ Länge (ausnahmsweise bis 24 μ) und $3\frac{1}{2}$ —6 μ Breite. Die Konidien nordamerikanischer Herkunft dagegen maßen meist 11—14 μ (selten mehr) in der Länge und 3,2—5 μ in der Breite. Liegen größere Mengen von Konidien zur Untersuchung vor, so können Proben von nordamerikanischer und schweizerischer Herkunft durch die mikroskopische Kontrolle meist unterschieden werden, was aber nicht möglich ist an Hand einzelner Sporen. In bezug auf Form und Inhalt der Konidien und auf deren Keimung (Auf-

¹⁾ l. c. p. 179.

treten einer Querwand in den keimenden Konidien, Bildung sekundärer Sporen am Keimschlauch), sowie in bezug auf makro- und mikroskopisches Aussehen des Mycel's sind aber durchgehende Unterschiede nicht wahrzunehmen.

Allerdings ist es mir bis jetzt nicht gelungen, Fruchtkörper mit Asci zu erhalten, trotzdem ich mich genau an die von den amerikanischen Autoren mit Erfolg angewendeten Kulturverfahren hielt; doch darf darauf vorläufig kein großes Gewicht gelegt werden, weil in meinen Versuchen auch das amerikanische *Gloeosporium fructigenum* im Verlaufe von 5 Monaten noch keine Asci produzierte.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß das nordamerikanische und das schweizerische *Gloeosporium fructigenum* morphologisch im großen und ganzen übereinstimmen. Deshalb verzichte ich darauf, an dieser Stelle näher auf die morphologische Beschreibung des Pilzes einzutreten und verweise zu diesem Zwecke auf die zitierten, meist reich illustrierten Beschreibungen der nordamerikanischen Autoren.

Anders liegen die Verhältnisse in physiologischer Hinsicht. Die folgenden Versuche über die Wachstumsgeschwindigkeit der Pilze bei verschiedenen konstanten Temperaturen wurden in ähnlicher Weise durchgeführt wie in meiner schon erwähnten Untersuchung über die einheimischen Fäulnispilze des Lagerobstes.

Ich brachte aus den Reinkulturen jeweils kleine Mycelflöckchen mit der Platinnadel in die Mitte von Petrischalen, welche frisch erstarrte Birnsaftgelatine (bei den zwei höchsten Versuchstemperaturen Birnsaftagar) enthielten und stellte die Schalen dann sofort in die verschiedenen Fächer eines Panum'schen Thermostaten. Die Kontrolle des Pilzwachstums erfolgte durch periodische Messung des größten Durchmessers der heranwachsenden Kultur. Jeder Versuch wurde mehrfach, wenigstens doppelt ausgeführt und der Mittelwert in die Tabelle eingetragen. Als konstante Versuchstemperaturen wählte ich 5, 10, 15, 19, 23, 27 und 32° C, mit maximalen Schwankungen von 1° nach oben und unten. Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt (s. p. 464).

Bei konstant 5° C erreichte die Kultur des schweizerischen *Gloeosporium fructigenum* im Verlaufe der 35 Versuchstage einen Durchmesser von 3,7 cm, während der amerikanische Pilz in der gleichen Zeit keine Spur eines Wachstums zeigte. Sein Wachstumsminimum liegt demnach über 5°, während dasjenige des schweizerischen *Gloeosporium fructigenum*, wie ich früher zeigte (l. c. p. 228) bei ungefähr 0° liegt.

Bei der Versuchstemperatur von 10° besitzt das schweizerische *Gloeosporium* immer noch einen bedeutenden Vorsprung. Nach 20 Tagen ist seine Kolonie 5,3 cm breit, diejenigen des nordamerikanischen erst 3,5 und 3,8 cm. Fast gleich schnell wachsen die beiden *Gloeosporien* bei 15° C; der Pilz schweizerischer Herkunft hat die Wachstumsgeschwindigkeit bei dieser um 5° höheren Temperatur ungefähr verdoppelt, der andere hat sie verdreifacht. Bei 19° wächst das nordamerikanische *Gloeosporium* schon deutlich rascher als das schweizerische, immerhin hat auch dieses durch die höhere Temperatur eine unzweifelhafte Förderung im Wachstum erhalten, wie auch bei der Versuchstemperatur von 23°. Das nordamerikanische *Gloeosporium* wächst bei 23° ebenfalls bedeutend rascher

Wachstum von *Gloeosporium fructigenum* mitteleuropäischer und nordamerikanischer Herkunft in Plattenkulturen bei verschiedenen konstanten Temperaturen.

(Die Zahlen geben den Durchmesser der Pilzkultur in cm wieder.)

Versuchstemp- peratur ° C	Zahl der Tage nach Versuchs- beginn	Schweizerisches <i>Gloeosporium</i> <i>fructigenum</i> von Wädenswil	Nordamerikanisches <i>Gloeosporium</i>	
			von Washington	von Illinois
5°	6	0	0	0
	12	0,4	0	0
	20	1,5	0	0
	35	3,7	0	0
10°	3	0,6	0,4	0,4
	6	1,4	0,9	0,9
	12	3,0	2,0	2,1
	20	5,3	3,5	3,8
15°	3	1,2	1,2	1,2
	6	2,4	2,6	2,4
	12	5,3	6,0	5,5
19°	3	1,7	2,4	2,3
	6	3,6	5,7	5,4
	12	7,3	Schale überwachsen	Schale überwachsen
23°	3	2,2	3,1	3,0
	6	4,7	6,5	6,3
27°	3	0,5	3,8	3,9
	6	1,0	6,9	6,8
32°	3	0	1,5	1,3
	6	0	2,7	2,4

als bei 19°; bei 27° ist noch eine weitere, allerdings geringe Steigerung zu konstatieren, so daß sein Wachstumsoptimum also nahe dieser Temperatur liegen muß. Auf das Wachstum unseres schweizerischen *Gloeosporium* wirkt die Temperatur von 27° schon stark hemmend ein; der Pilz wächst hier sogar langsamer als bei 10°; sein Optimum liegt demnach nahe bei 23° C, worauf die Wachstumskurve relativ steil abfällt.

Und bei 32° C ist das Wachstum des schweizerischen *Gloeosporium* vollständig zum Stillstand gekommen, so daß die obere Grenze seines Wachstums demnach zwischen 27 und 32° C liegt. Impfte man beispielsweise sterilisierte Kartoffelstücke in Reagenzgläsern mit dem schweizerischen *Gloeosporium fructigenum* und stellte sie 6 Tage lang bei 32° C auf, so war kein Pilzwachstum nachzuweisen. Kamen die Gläser hierauf 6 weitere Tage in Zimmertemperatur, so enthielten sie nun üppige *Gloeosporium* kolonien. Das nordamerikanische *Gloeosporium* dagegen gedeiht bei dieser hohen Temperatur noch recht gut, ungefähr wie bei 15°; sein Wachstum kommt demnach erst bei einer Temperatur von über 32° C zum Stillstand.

Scott¹⁾ gibt an, daß das nordamerikanische *Gloeosporium fructigenum* nördlich vom 40. Breitengrad selten mehr ernsthafte Epidemien verursache, und daß eine Maximaltemperatur von 90° F. (32° C) an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen und günstige Feuchtigkeitsverhältnisse

¹⁾ l. c. p. 13.

zur Entstehung von *Gloeosporium*-Epidemien nötig seien, während dieselben zum Stillstand kommen, wenn die Temperatur durch mehrere Tage hindurch unter 21° C sinkt. Wie die vorliegenden Versuche zeigen, würde allerdings eine anhaltende Temperatur von 32° C für das Wachstum dieses Pilzes keineswegs am günstigsten sein; doch geht man wohl nicht fehl, wenn man annimmt, daß bei einer Maximaltemperatur von 32° C an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen die durchschnittliche Temperatur im Innern der Früchte — in Berücksichtigung der nächtlichen Abkühlung — sich etwa auf 27° C einstellen wird. Diese Temperatur entspricht, wie eben gezeigt wurde, genau der optimalen Wachstumstemperatur des amerikanischen *Gloeosporium fructigenum*.

Die eben beschriebenen Versuche über das Wachstum von *Gloeosporium fructigenum* bei verschiedenen Temperaturen zeigen nun mit aller Deutlichkeit, daß wir es hier mit zwei gut unterscheidbaren Wärmerrassen zu tun haben, und daß demnach das mitteleuropäische und das nordamerikanische *Gloeosporium fructigenum* trotz ihrer morphologischen Ähnlichkeit keineswegs identisch sind, sondern sich nach den Wärmeverhältnissen der von ihnen bewohnten Gebiete spezialisiert haben. Die Reinkulturen von Washington und Illinois stimmten dagegen gut miteinander überein.

Als weiteres physiologisches Unterscheidungsmerkmal kann auch die energischere peptonisierende Wirkung des amerikanischen *Gloeosporium* betrachtet werden, indem die Kulturen dieses Pilzes die Gelatine bei allen Temperaturen viel früher verflüssigten, als unser schweizerisches *Gloeosporium*. Dies ergibt sich z. B. aus Beobachtungen bei einer Versuchstemperatur von 15°, wo das amerikanische *Gloeosporium* die Gelatine am 11. Tage schon stark verflüssigt hatte, während unser schweizerischer Pilz selbst am 42. Tage noch keine Verflüssigungserscheinungen erzeugt hatte, was um so auffälliger war, als das Wachstum der beiden *Gloeosporien* bei dieser Temperatur ungefähr übereinstimmt. Immerhin verflüssigt auch das schweizerische *Gloeosporium fructigenum* noch rascher als etwa *Penicillium glaucum*, *Monilia fructigena*, *Aspergillus niger* oder *Mucor piriformis*.

Deutliche physiologische Unterschiede zwischen dem schweizerischen und dem nordamerikanischen *Gloeosporium fructigenum* ergaben sich auch bei Impfversuchen mit Früchten.

Ich impfte Ende Juli je zwei unreife, frisch gepflückte Äpfel, die noch sehr viel Stärke enthielten, an je 2 Stellen mit den Versuchspilzen und stellte sie in feuchten Schalen bei 23° C auf. Es sollte sich zeigen, wie unser schweizerisches *Gloeosporium fructigenum* bei dieser ungefähr optimalen Wachstumstemperatur sich im Vergleich zu dem amerikanischen Pilze als Fäulniserreger verhalte. Zugleich wurde auch ein Kontrollversuch mit *Monilia fructigena* angestellt, da dieser Pilz in Mitteleuropa ja ganz ähnliche Fäulnisepidemien an den noch am Baume hängenden Früchten erzeugt, wie *Gloeosporium fructigenum* in Nordamerika. Die *Monilia*-Impfstellen zeigten schon nach 16 Stunden Faulflecke von ½ cm Durchmesser, während an den mit *Gloeosporium* geimpften Äpfeln noch kein Impferfolg zu bemerken war.

Drei Tage nach Versuchsbeginn hatte das amerikanische *Gloeosporium* Faulflecke von 0,5—0,8 cm Durchmesser hervorgerufen; beim schweizerischen *Gloeosporium* war immer noch kein Erfolg zu be-

obachten, während die vier *Monilia*-Faulstellen alle 4—5 cm maßen. 9 Tage nach Versuchsbeginn waren die vier Faulstellen mit *Gloeosporium fructigenum* aus Washington $1\frac{1}{2}$ —3, diejenigen mit *Gloeosporium fructigenum* aus Illinois 2— $3\frac{1}{2}$ cm breit; die schweizerische Rasse dagegen hatte jetzt einen Faulfleck von 0,8 und einen zweiten von 0,3 cm erzeugt, in zwei anderen Stichstellen war sie nicht ins Fruchtfleisch hineingewachsen. Die beiden mit *Monilia* geimpften Äpfel erschienen zu dieser Zeit schon vollständig schwarzfaul. Eine Weiterführung des Versuches erschien deshalb nicht gerechtfertigt, weil während der Lagerung bei der hohen Temperatur die gepflückten Früchte natürlich auch nicht unverändert blieben, sondern rasch einer Art Notreife entgegengingen, wodurch das Versuchsergebnis stark beeinflußt werden konnte. Es scheint, daß das schweizerische *Gloeosporium fructigenum* in den ersten drei Tagen nach dem Pflücken auf den unreifen Äpfeln aus diesem Grunde nicht zu wachsen vermochte und warten mußte, bis die Früchte eine ihm passende Beschaffenheit angenommen hatten.

Immerhin ergibt sich aus diesem Versuche doch die Tatsache, daß das amerikanische unserem schweizerischen *Gloeosporium fructigenum* als Fäulniserreger an unreifen Äpfeln bedeutend überlegen ist. Noch viel leistungsfähiger erscheint allerdings *Monilia fructigena*, wenigstens bei 23° C. Ob sie es auch bei der optimalen Wachstumstemperatur des amerikanischen *Gloeosporium* ist, habe ich noch nicht festgestellt; immerhin muß ich nach einem vereinzelt Versuche annehmen, daß die obere Temperaturgrenze des *Monilia*-Wachstums unter 32° C liegt. Deshalb erscheint es nicht ausgeschlossen, daß bei den Temperaturen der *Gloeosporium*-Epidemien ihr das amerikanische *Gloeosporium* überlegen ist.

Besser stimmte das Wachstum der schweizerischen und der amerikanischen Rasse bei Impfversuchen mit reifen, stärkefreien Birnen überein. Nach 6 Tagen bei 23° C maßen die von der ersteren verursachten Faulflecke 3—4 cm, diejenigen der amerikanischen 5—6 cm. Auf überreifen, nahezu 10 Monate gelagerten Äpfeln dagegen maßen selbst nach 12 Tagen alle Faulflecke erst noch $1\frac{1}{2}$ cm und zwar sowohl bei dem amerikanischen als bei dem schweizerischen *Gloeosporium*.

Es wurde schon erwähnt, daß das amerikanische *Gloeosporium* an Apfelzweigen charakteristische Krebserscheinungen erzeugt. Von unserem einheimischen *Gloeosporium* sind solche Wirkungen nicht bekannt; immerhin wurde meines Wissens bis jetzt nicht versucht, die Frage experimentell zu lösen.

Auf 2—3 cm dicken, im Autoklaven sterilisierten Zweigstücken von Apfel- und Buchenholz wuchsen beide *Gloeosporien* bei Zimmertemperatur recht gut und hatten nach 12 Tagen nicht nur die infizierten Schnittflächen, sondern zum Teil auch die Rinde mit grauweißem, wolligem Mycel überzogen. Des weiteren impfte ich auch ein junges, eingestopftes Apfelbäumchen in 12 Schnittwunden, die am Stämmchen und an verschiedenen Stellen der Zweige bis zu den jüngsten Trieben angebracht wurden. Das Impfmaterial entstammte einer Reinkultur des schweizerischen *Gloeosporium fructigenum* auf feuchtem Mehl und besaß außerordentlich zahlreiche Konidien. Das Versuchsbäumchen wurde dann während mehrerer Tage in einem Infektionskasten sehr feucht gehalten bei einer Temperatur von über 20° C. Trotzdem sich beobachten ließ, wie der Pilz aus einigen der

Schnittwunden hervorwuchs, konnte ich bis jetzt (nach 4 Monaten) doch kein Eindringen des Mycels ins Innere der Zweige nachweisen. Immerhin sollen die noch verbleibenden Impfstellen im folgenden Jahre weiter kontrolliert werden. Von Parallelversuchen mit dem amerikanischen *Gloeosporium* sah ich in diesem Falle ganz ab, um einer eventuellen Verschleppung dieses Pilzes ins Freie vorzubeugen, eine Vorsichtsmaßregel, die besonders auch in Anbetracht des abnorm heißen Sommers 1911 nicht unangebracht erschien.

Zusammenfassung.

Wenn wir die im vorstehenden mitgeteilten Versuchsergebnisse kurz überblicken, so erkennen wir mit aller Deutlichkeit, daß das amerikanische und schweizerische *Gloeosporium fructigenum* sich physiologisch in verschiedenen Punkten voneinander unterscheiden.

Einerseits handelt es sich bei denselben um zwei verschiedene Wärmerassen, indem beim amerikanischen Pilze, der wärmere Gebiete bewohnt, die Kardinalpunkte des Wachstums ungefähr 5°C höher liegen als beim mitteleuropäischen.

Weiter ließ sich feststellen, daß das amerikanische *Gloeosporium fructigenum* ein wirksamerer Fäulniserreger ist als das mitteleuropäische, weil das erstere in jüngeren, noch ganz unreifen Früchten bedeutend besser wächst und infolgedessen schon früher beginnt, die Obsternte zu schädigen. Dazu kommt noch der weitere Umstand, daß überhaupt — optimale Temperaturbedingungen vorausgesetzt — das nordamerikanische *Gloeosporium fructigenum* eine bedeutend größere Wachstumsgeschwindigkeit besitzt, als unsere mitteleuropäische Rasse.

Und schließlich sei hervorgehoben, daß unser mitteleuropäisches *Gloeosporium fructigenum* bisher nie als Krebserreger an Zweigen von Apfelbäumen konstatiert wurde und im vorstehenden Impfversuche auch nicht in lebende Zweige einzudringen vermochte, während die nordamerikanische Rasse nicht nur als Obstfäulnispilz in Betracht kommt, sondern in der Union bekanntlich auch der Urheber einer verbreiteten Krebserscheinung an Apfelbäumen ist.

In morphologischer Beziehung sind die Unterschiede allerdings zu wenig greifbarer Art, als daß sich eine Speziestrennung rechtfertigen würde. Eher könnte man, wie z. B. bei den Rostpilzen, hier von biologischen Arten sprechen. Es wird aber genügen, wenn man künftighin die beiden als nordamerikanisches und mitteleuropäisches *Gloeosporium fructigenum* auseinanderhält.

Über nordafrikanische Zoocecidien.

Von Dr. Mathilde Schneider-Orelli, Wädenswil.

Mit 5 Textfiguren.

Die Zoocecidien, die im folgenden zur Besprechung gelangen, sammelte ich auf einer von den Herren Prof. Rikli und Prof. Schröter in Zürich geleiteten naturwissenschaftlichen Studienreise nach Algerien, die im März und April 1910 stattfand.

In Algerien haben bisher besonders Houard¹⁾ und Marchal²⁾ Zoocecidien gesammelt und beschrieben. Wie erwartet werden konnte, war ein Teil der von mir gesammelten Gallen schon früher aus Algerien oder doch aus anderen Ländern beschrieben worden, und ich habe diese Formen deshalb nur kurz erwähnt. Immerhin fand sich eine Anzahl neuer Gallen, und zwar auch aus dem Gebiet südlich von Aïn-Sefra, aus der eigentlichen Wüste, wo meines Wissens bis jetzt noch keine Zoocecidien gesammelt worden waren.

Als Exkursionsgebiete kamen in Betracht: Die Umgebung der Städte Alger, Oran und Tlemcen, Khreider, Aïn-Sefra, das Gebiet zwischen Béni-Ounif und der marokkanischen Oase Figuig und die Umgebung der marokkanischen Grenzstadt Udschda.

Zweifellos wäre die Ausbeute an Gallen bei etwas vorgerückterer Jahreszeit eine größere gewesen, da die Vegetation in den höheren Lagen und in der Wüste noch stark im Rückstande war.

Viele der gesammelten Gallen waren alt und von ihren Bewohnern verlassen, so daß ich in diesen Fällen nur die Gallenbildung, nicht aber den Gallenerzeuger berücksichtigen konnte.

Bestimmt wurden die Gallen nach dem ausgezeichneten Handbuch von Houard: Les Zoocécidies des plantes d'Europe et du Bassin de la Méditerranée. Paris 1908—1909 unter Beiziehung zahlreicher Spezialarbeiten verschiedener Autoren.

Da, wo ich im folgenden keine speziellen Literaturnachweise angebe, stützen sich meine Bemerkungen immer auf das erwähnte Handbuch von Houard.

Herr Prof. Dr. Schröter in Zürich hatte die große Liebenswürdigkeit, die Wirtspflanzen der gesammelten Gallen zu bestimmen. Ich möchte ihm an dieser Stelle meinen herzlichen Dank für seine Freundlichkeit aussprechen.

Ephedra fragilis Desfont.

Dicht am Weg von Aïn-Sefra auf den Gipfel des Djebel Mekter fand sich eine größere Anzahl von *Ephedra fragilis*-Büschen, von denen einige mit zahlreichen Zweiggallen besetzt waren (6. IV. 10). Aus den Mittelmeerländern und aus Europa sind bis jetzt nur drei Zoocecidien auf *Ephedra* arten bekannt, wovon nur die auf *Ephedra distachya* in Frankreich gefundene Cecidomyidengalle mit der unserigen

¹⁾ Houard, C., Zoocécidies recueillies en Algérie. (Compt. rend. de la 30me session de l'ass. franc. pour l'avanc. des sciences. 2. Partie. 1902. p. 699—707.)

²⁾ Marchal, P., Notes d'entomologie biologique sur une excursion en Algérie et en Tunisie etc. (Mém. Soc. zool. Paris. T. 10. 1897. p. 5—25.)

einige Ähnlichkeit hat. Hingegen beschreibt Rübsaamen¹⁾ zwei ähnliche Gallen aus Süd-Ost-Persien auf *Ephedra intermedia* und *E. nebradensis*. In der ersten fand er eine Schmetterlingsraupe, die zweite ist wahrscheinlich eine Cecidomyidengalle.

Das Zoocecidium vom Djebel Mekter ist eine längliche Zweiggalle, die bis 12 mm lang und bis 5 mm dick wird. Die Form der Gallen ist insofern eine etwas wechselnde, als die einen ziemlich scharf von der gesunden Zweigpartie abgesetzt erscheinen, während bei anderen die Verdickung eine mehr allmähliche ist (Fig. 1). Die jungen Gallen ohne Ausflugsöffnung sind von roter, die alten von gelber Farbe mit einer oder mehreren seitlichen Ausflugsöffnungen. Die jungen zeigen eine geringere Dicke, sind aber von ungefähr gleicher Länge wie die alten. Öffnete man die jungen Gallen, so fand man eine zentrale, längliche Larvenhöhle mit 1—5 Cecidomyidenpuppen. In einigen Fällen schienen die Gallmücken dicht vor dem Ausschlüpfen zu stehen.

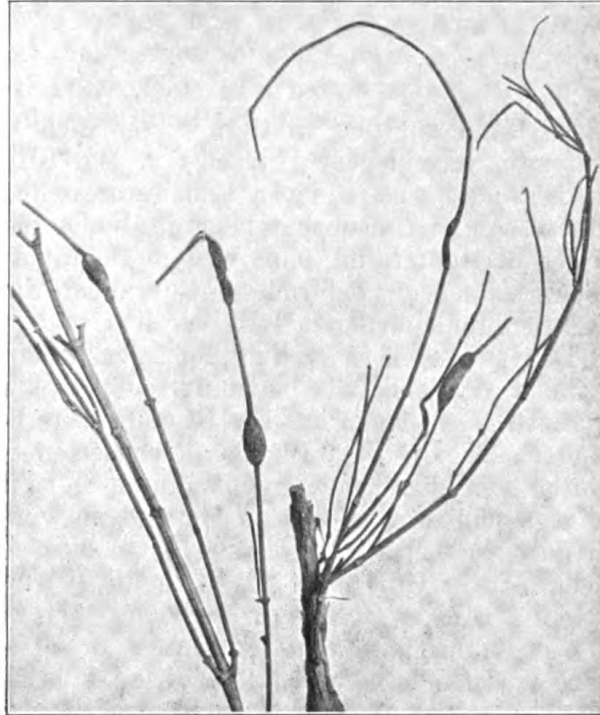


Fig. 1. Zweiggalle auf *Ephedra fragilis*.
 $\frac{1}{2}$ nat. Gr.

Salix babylonica L.

Auf zahlreichen Trauerweiden in Khreider (8. IV. 10) fanden sich massenhaft Wirrzöpfe, die bekanntlich durch Gallmilben (*Eriophyes tri-radiatus* u. a.) verursacht werden. Diese waren bis jetzt nur für Europa und Kleinasien, nicht aber für Algerien bekannt. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß die Parasiten mit den Nährpflanzen in das algerische Steppengebiet eingeschleppt wurden.

Populus alba L. und *P. nigra* L.

Zwischen Ain-Sefra und den großen Sanddünen wurden in den achtziger Jahren eine große Menge von Pappeln zum Schutze gegen den anfliegenden Sand gepflanzt. Es handelte sich dabei um die oben genannten Arten. Schon auf größere Entfernung fielen an den zu dieser Zeit (5. IV. 10) noch unbelaubten Bäumen die massenhaften Gallenbildungen auf. Besonders auffällig waren die Gallen von *Eriophyes populi* auf Po-

¹⁾ Rübsaamen, Ew. H., Mitteilung über die von Herrn J. Bornmüller im Oriente gesammelten Zoocecidien. (Zool. Jahrb. Bd. 16. 1902. p. 243.)

pulus alba, die auch schon von H o u a r d für Algerien nachgewiesen wurden, und zwar für Saint-Denis-du Sig.

Auf *Populus nigra* sammelte ich zwei andere Gallen, die bisher in Nord-Afrika nicht nachgewiesen waren, dagegen in Europa schon lange bekannt sind, nämlich die Gallen von *Pemphigus bursarius* und *P. vesicarius*.

Quercus Ilex L. var. *Ballota* Dl.

Ich fand auf den Blättern dieser Eiche in der Umgebung der Stadt Alger zwei verschiedene Erineen (19. III. 10). Das eine, nach H o u a r d von *Eriophyes ilicis* Can. verursachte, das schon früher von diesem Autor in Algerien beobachtet wurde, bildet rostfarbene Flecken vorwiegend auf der Blattunterseite, ohne weitere Deformation der Blattfläche. Die einzelnen Strahlen der deformierten Sternhaare sind sehr verschieden gestaltet, meist in ihrem mittleren Teile verdickt.

Das zweite *Erineum* hingegen scheint für Algerien neu zu sein. Es findet sich ebenfalls blattunterseits, liegt aber in starken Vertiefungen der Blattfläche, denen auf der Blattoberseite buckelartige Hervorwölbungen entsprechen. Die Strahlen der deformierten Sternhaare unterscheiden sich dadurch von denen des ersterwähnten *Erineum*, daß sie viel länger und regelmäßiger erscheinen. Sie sind nie verdickt in der Mitte, verjüngen sich dagegen deutlich gegen die Spitze hin. Die *Eriophyes*-Spezies, welche hier als Urheber in Frage kommt, ist noch nicht genauer untersucht. Immerhin wird es sich kaum um *Eriophyes ilicis* handeln. Auch R ü b s a a m e n¹⁾, der zum erstenmal diese beiden Erineen auf *Quercus Ilex* auseinanderhält, sagt: „Es ist kaum anzunehmen, daß ein und dasselbe Tier an ein und derselben Pflanze so verschiedenartige Deformationen hervorbringt.“

Auf der gleichen Wirtspflanze fand ich wenig unterhalb des Gipfels am Djebel Mekter zwei Exemplare einer Zweiggalle, die mit großer Wahrscheinlichkeit von *Andricus singulus* herrührt. Das eine ist eine letztjährige, braune, verholzte, länglichrunde Galle von 10 mm Länge und 7 mm Breite, die nach oben zugespitzt erscheint. An ihrer Oberfläche erkennt man noch deutlich die Ansatzstellen einiger Blätter. Die Galle ist mehrkammerig und es finden sich an dem vorliegenden Exemplar drei Ausflugsöffnungen. Das andere Exemplar ist bedeutend kleiner und scheint verkümmert. Es besitzt nur eine Ausflugsöffnung.

Quercus Suber L.

Auch auf den Blättern der Korkeiche fanden sich zwei verschiedene Erineen, die mit den beiden auf *Qu. Ilex* var. *Ballota* übereinstimmen.

Das erste, aus den Korkeichenwäldern von Terni bei Tlemcen (12. IV. 10), welches nach H o u a r d s Handbuch *Eriophyes ilicis* Can. zugeschrieben werden kann, erzeugt keine Deformation der Blattfläche. Die Strahlen der Sternhaare sind meist in der Mitte oder im unteren Teil, seltener am Ende verdickt. Die Übereinstimmung mit H o u a r d s Beschreibung des *Erineum* von *Eriophyes ilicis* auf *Quercus*

¹⁾ R ü b s a a m e n, Ew. H., Über Zoocecidien von der Balkan-Halbinsel. (III. Ztschr. f. Entomolog. Bd. 5. 1900.)

Suber ist immerhin nicht eine vollständige, indem in unseren Proben die langen, schlanken, gewundenen Strahlen fehlen. Dieses *Erineum* war bis jetzt nur für Süd-Europa und die Balkanhalbinsel nachgewiesen.

Das zweite *Erineum* erzeugt die Filzbildungen in starken Vertiefungen auf der Blattunterseite. Es lassen sich hier zwei Arten von deformierten Strahlen unterscheiden, hyaline oder schwach gelblich gefärbte, lange, dünne, zugespitzte und dazwischen braune, dickere, zylindrische Strahlen. Dieses von einer bis jetzt nicht näher untersuchten Eriophyide herrührende *Erineum* wurde bisher nur für Italien und Portugal nachgewiesen. Ich fand es in den Korkeichenwäldern von Baïnem bei Alger (20. III. 10) und Terni bei Tlemcen (12. IV. 10).

Quercus Mirbeckii Durieu.

Am 12. IV. 10 fand ich im Wald von Terni die Blätter von *Quercus Mirbeckii* massenhaft von einem *Erineum* befallen. Da nach Houard auf dieser Eiche bis jetzt überhaupt noch kein *Erineum* gefunden wurde, soll eine kurze Beschreibung hier folgen:

Auf der Unterseite der Blätter treten braune Filzrasen von unregelmäßiger Form und 2—6 mm Durchmesser auf. An der angegriffenen Stelle ist das Blatt nach oben ausgebuchtet (Fig. 2). Unter dem Mikroskop sieht man deutlich, daß der braune Rasen aus zwei Arten von Sternhaaren zusammengesetzt ist:

1) Aus solchen mit braunen, dicken, in der Mitte oder am Ende angeschwollenen Strahlen, die vielfach gewunden oder ineinander verschlungen sind, und

2) aus solchen mit langen, wasserhellen oder doch nur im unteren Teil gelblichbraunen, zylindrischen, nach der Spitze zu verjüngten Strahlen.

Es ist möglich, daß das *Erineum* auf *Quercus Mirbeckii* mit dem einen der beiden auf *Quercus Suber* vorkommenden identisch ist, und zwar mit demjenigen, das durch die noch nicht näher untersuchte Eriophyide verursacht wird. Kamen doch im Wald von Terni *Quercus Mirbeckii* und *Quercus Suber* zwischen und nebeneinander vor. Die Ausbuchtungen der angegriffenen Blattstellen nach oben sind allerdings bei der Korkeiche viel ausgeprägter. Bei mikroskopischer Betrachtung hingegen zeigen die beiden *Erineen* gute Übereinstimmung.

Im Wald von Terni fanden sich am gleichen Tag noch einige andere Zooecidien auf *Quercus Mirbeckii*.

Auf einem alten abgestorbenen Blatte beobachtete ich blattunterseits auf einem Blattnerv inseriert eine längliche runde Galle von 4 mm Länge mit seitlichem Flugloch und einer einzigen Larvenhöhle. Die dünne Gallen-

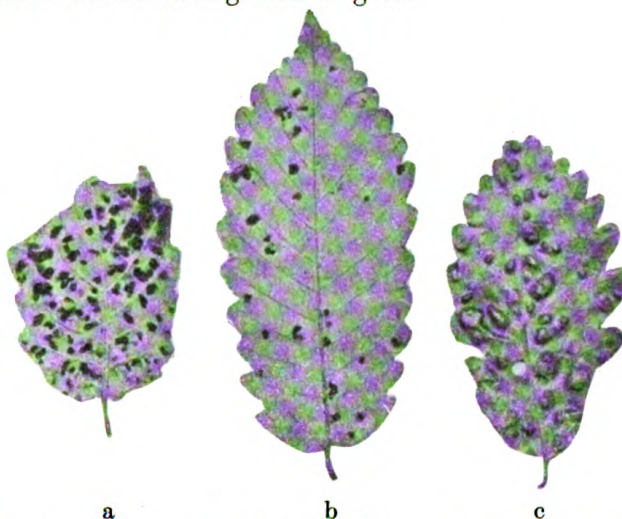


Fig. 2. *Erineum* auf den Blättern von *Quercus Mirbeckii*. a u. b Blattunterseite, c Blattoberseite. $\frac{2}{7}$ nat. Gr.

wand zeigt an ihrer Außenfläche leicht warzige Struktur. Da das Tier die Galle verlassen hatte und dieselbe zudem nur in einem einzigen Exemplar vorlag, ließ es sich nicht mit Sicherheit entscheiden, ob es sich hier um die für *Quercus Mirbeckii* in Algier schon nachgewiesene *Dryophanta divisa* Hartig, oder um eine andere auf *Quercus Mirbeckii* bis jetzt noch nicht gefundene *Dryophanta* art handle.

Des weiteren fand sich dort auch die charakteristische mehrkammerige Knospengalle von *Andricus Panteli* Kieff. mit einem Durchmesser von 1—1½ cm (ohne Fortsätze) und zahlreichen, verschieden dicken Fortsätzen von etwa 7 mm Länge. Diese mit Längsrinnen versehenen Fortsätze erscheinen an ihrem äußeren Ende verdickt, dunkler gefärbt und klebrig. Es konnten zahlreiche Ausflugsöffnungen beobachtet werden. Die Galle ist für *Quercus Mirbeckii* neu, wurde dagegen für die verwandte *Quercus lusitanica* aus verschiedenen Mittelmeerländern, auch aus dem benachbarten Marokko beschrieben.

Nur erwähnen will ich ferner die großen, auffälligen Knospengallen von *Cynips quercus-tozae* Bosc. und von *Cynips Kollari* Hartig, von denen besonders die erstere im Wald von Terni an einzelnen Bäumen in hunderten von Exemplaren vorhanden war.

Quercus coccifera L.

In der Umgebung der Stadt Tlemcen fand ich auf den Blättern dieser Eiche ebenfalls ein *Erineum*. Der dichte braune Filz liegt auch hier auf der Blattunterseite in tiefen, fast sackartigen Einsenkungen, denen auf der Blattoberseite starke Hervorwölbungen entsprechen. Der Filz besteht aus zweierlei Haaren, einerseits aus langen, hyalinen, oben deutlich verjüngten, andererseits aus braunen, kürzeren, die zylindrisch oder in der Mitte oder am Ende leicht verdickt sind. Die Deformation des Blattes erreicht hier bei stärkerem Befall einen so hohen Grad, wie ich ihn sonst bei keinem der anderen Erineen beobachten konnte. Einige der infizierten Blätter erscheinen vollständig verkrümmt und zusammengerollt, so daß die Assimilationstätigkeit zweifellos in hohem Maße in Mitleidenschaft gezogen wird.

Dieses *Erineum* ist identisch mit dem von Rübsaamen (l. c.) auf der Balkanhalbinsel gefundenen *Erineum impressum* Corda auf *Quercus coccifera*. Ob es aber durch *Eriophyes ilicis* erzeugt wird, wie Houard angibt, erscheint mir sehr zweifelhaft, indem diese Art, wie wir gesehen haben, auf *Quercus Ilex* var. *Bal-lota* und auf *Quercus Suber* Erineen erzeugt, die nicht in die Blattfläche eingesenkt sind. Die anderen eingesenkten Erineen auf den genannten *Quercus* arten werden dagegen auch von Houard einer anderen, nicht genauer untersuchten Eriophyide zugeschrieben.

Bei diesem *Erineum* auf *Quercus coccifera* waren zwischen den deformierten Haaren bis 190 µ lange Gallmilben in großer Menge zu sehen.

Am 19. und 24. III. 10 fand ich in der Umgebung der Stadt Alger auf den Blättern von *Quercus coccifera* in großer Anzahl die auffälligen Gallen von *Dryomyia cocciferae* Marchal, die schon Marchal (l. c.) für Algerien nachgewiesen und beschrieben hatte. Es sind dies taschenförmige Gallen von 3—6 mm Länge und 2 mm Dicke, die auf der Blattunterseite 3—4 mm weit über die Blattfläche emporragen. Die Gallen besitzen blattoberseits eine enge Spalte, deren Ränder nur an

einem Ende eine etwa $\frac{1}{2}$ mm breite, runde Öffnung frei lassen. Die Ausstülpung auf der Blattunterseite ist seitlich stark zusammengedrückt und besitzt infolge starker Rippenbildung eine runzelige Oberfläche. Die Galle ist einkammerig. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Materials zeigte es sich, daß das sämtliche Gallengewebe vollständig stärkefrei war, während die normalen Blattpartien bis dicht an die Galle heran viel Stärke aufgespeichert enthielten. Diese alten Gallen bestehen zu äußerst aus einer Epidermis, in der noch zahlreiche Spaltöffnungen nachzuweisen waren, darunter folgt das gleichmäßige Gallenparenchym, welches gegen die Larvenhöhle hin durch eine kleinzellige Partie abgeschlossen wird. Diese *Dryomyia* gallen fanden sich an einzelnen Zweigen in so außerordentlicher Menge vor, daß die klein gebliebenen, nur etwa 2 cm langen Blätter bis 30 solche aufwiesen. Diese am stärksten infizierten Blätter waren zu einem unförmlichen höckerigen Körper zusammengerollt (Fig. 3). Zahlreiche Zweige fanden sich, die kaum ein einziges normales Blatt besaßen.



Fig. 3. Blattgalle von *Dryomyia coccoiferae*; stark befallene *Quercus coccoifera*-Blätter. $\frac{2}{3}$ nat. Gr.

Und schließlich seien noch die am Djebel Murdjado bei Oran (29. III. 10) an vielen *Quercus coccoifera*-Blättern gefundenen Gallen von *Plagiotrochus ilicis* Fabr. erwähnt, eine Cynipidengalle, die auch schon von Marchal und Houard in Algerien gefunden wurde.

Suaeda vermiculata Forskol.

Auf dieser Pflanze fand ich am 30. III. in der Nähe der kleinen Sebka bei Oran eine große Zahl von 3–10 mm dicken, meist unregelmäßig runden, seltener etwas länglichen Zweiggallen. Beim Öffnen sieht man einen unregelmäßigen Hohlraum im schwammigen Gallengewebe, der tausende von Milben enthält. In alten Gallen bemerkt man häufig eine etwas unregelmäßige, kaum 1 mm breite Öffnung, die aus dem Gallenraum nach außen mündet. Die Milben messen 100–105 μ in der Länge und 20–35 μ in der Breite. Gewöhnlich setzt sich der Zweig oberhalb der Galle normal fort, in einigen Fällen scheint er aber zu verkümmern, so daß man glauben könnte, Stengel-Endgallen vor sich zu haben.

Unser Cecidium zeigt große Ähnlichkeit mit demjenigen von *Eriophyes caulobius* auf *Suaeda fructicosa*, das auf Sizilien gefunden wurde. Für *Suaeda vermiculata* ist es neu.

Silene rubella L.

Für diese *Silene*-art sind in Houard noch keine Zoocecidien angegeben. In der Nähe der Stadt Oran fand ich einige dieser Pflanzen mit

spindelförmigen Anschwellungen der Stengel-Internodien, die die zwei- bis dreifache Dicke des normalen Stengels erreichten (30. III. 10). Die gesammelten Gallen waren noch in einem ganz jugendlichen Stadium, und man muß annehmen, daß sie bei vorgerückterem Wachstum größere Dimensionen angenommen hätten. Beim Öffnen der Gallen konnte man die Beobachtung machen, daß ein solches angeschwollenes Internodium manchmal nur eine einzige oft aber zwei bis drei Larvenkammern enthielt. Da die vertrockneten gelblichen Larven sehr schlecht erhalten waren, bot ihre Bestimmung große Schwierigkeit. Doch scheint es sich dabei um fußlose Käferlarven zu handeln.

Clematis cirrhosa L.

Am 19. III. 10 fand ich diese Pflanze in der Umgebung der Stadt Alger außerordentlich stark von *Epitrimerus heterogaster* Nal. befallen. Die meisten Blätter waren stark deformiert, vom Rande her eingerollt und nach allen Seiten mit Runzeln und Furchen bedeckt. Die Galle ist von Marchal in Algerien gefunden und beschrieben worden.

Zilla macroptera Cosson et Durieu.

Für *Zilla* arten gibt Houard nur ein einziges *Zoocecidium* an, nämlich eine Blütengalle auf *Zilla myagroides* aus Ägypten. Auf einer Exkursion von Béni-Ounif nach der Oase Figuig am 3. IV. 10 fand ich an einigen Zweigen von *Zilla macroptera* unregelmäßige, meistens rundliche, krebsartige Wucherungen von 3—8 mm Durchmesser. An jedem Höcker fand sich eine runde Öffnung von etwas weniger, als 1 mm Durchmesser. Beim Durchschneiden der Wucherung bemerkte man unregelmäßige Hohlräume im Innern. Auf welchen Urheber diese Erscheinung zurückzuführen ist läßt sich an Hand des gefundenen spärlichen Materials nicht entscheiden. Die infizierten Zweige waren alle abgestorben, und von den Gallenbewohnern war keine Spur mehr zu entdecken.

Zieht man ähnliche *Zoocecidien* an andern Cruciferen zum Vergleich herbei, so ist eine gewisse Ähnlichkeit mit *Ceuthorrhynchus*-Gallen nicht von der Hand zu weisen. Vielleicht handelt es sich auch im vorliegenden Falle um eine Käfergalle.

Rosa spec.

Am 24. III. fand sich auf den Blättern einer Rosaart in der Nähe der Stadt Alger die kugelige Galle von *Rhodites eglanteriae* Hartig in großer Anzahl und in allen Entwicklungsstadien vor. Ohne auf diese allgemein bekannte und weit verbreitete Rosengalle näher einzutreten, sei hier nur erwähnt, daß die Zellen des Gallenparenchyms auch dann immer mit Stärke angefüllt waren, wenn die umliegenden normalen Blattpartien keine Spur von Stärke aufwiesen.

Pistacia atlantica L.

Auf den eben entfalteten Fiederblättchen dieser Pistazie fanden sich sowohl bei Ain-Sefra (5. IV. 10) als auch in der Nähe der Stadt Udschda (14. IV. 10) junge, rote Gallen, zu zwei oder mehreren hinter einander am Ende eines Blättchens. Diese Gallen kommen dadurch zu stande, daß die entsprechenden Partien der beiden Längshälften der Blattfläche sich nach oben zusammenlegen und auf diese Weise einen durch eine spaltförmige Öffnung nach außen kommunizierenden Gallenraum bilden. Diese Galle

zeigt also eine gewisse äußere Übereinstimmung mit der auf *Pistacia atlantica* beschriebenen Galle von *Pemphigus Riccobonii*, unterscheidet sich aber durch den Umstand, daß bei der letzterwähnten die Ränder der Fiederblättchen nach unten umgeschlagen sind.

Mit dieser äußeren Deformation der Blattspreite gehen auch anatomische Veränderungen Hand in Hand, indem die Gallenwände aus gleichmäßigen, isodiametrischen Parenchymzellen bestehen, während in den normalen Fiederblättchen Palissaden- und Schwammgewebe deutlich zu unterscheiden sind.

Bei Untersuchung des Alkoholmaterials fand sich in jeder Galle ein ungeflügeltes Weibchen von 1,7 mm Länge, allein oder umgeben von einigen Jungen vor. Es scheint, soweit sich ohne geflügelte Individuen sagen läßt, zur Gattung *Pemphigus* zu gehören, was umso wahrscheinlicher erscheint als bisher auf *Pistacia* arten schon eine ganze Anzahl von *Pemphigus*-gallen bekannt wurden.

Die Proben aus der Umgebung von Ain-Sefra stammen von einem in der weiten Ebene völlig isolierten *Pistacia atlantica* baume, der stark infiziert war. Sonst waren auf mehrere Kilometer Entfernung überhaupt keine Bäume zu sehen, so daß die ursprüngliche Infektion des Baumes auf recht große Entfernung hin vor sich gegangen sein muß.

Pistacia Lentiscus L.

In der Umgebung von Alger findet sich auf dieser Pflanze eine große, bohnenförmige Blattgalle von hellgrüner oder rötlicher Farbe. Auch Howard hat dieses weitverbreitete, durch *Aploneura lentisci* Pass. verursachte Cecidium für Algerien nachgewiesen.

Tamarix spec.

Auf nicht näher bestimmten *Tamarix* arten sammelte ich am 3. IV. 10 bei der Oase Figuig und am 8. IV. 10 bei Khreider runde, oder länglich runde, bis 2 cm lange, verholzte Zweiggallen mit einer großen zentralen Larvenkammer und einer kreisrunden Ausflugsöffnung. In Innern fanden sich noch leere Hüllen einer Schmetterlingspuppe vor. Es handelt sich hier um die auf verschiedenen *Tamarix* arten vorkommenden Gallen von *Amblypalpis Olivierella* Ragonot, die auch in Algerien schon wiederholt gefunden wurden.

Deverra scoparia Cosson.

Ein interessante neue Galle fand ich am 3. IV. 10 auf dem Weg zwischen Béni-Ounif und Figuig auf *Deverra scoparia*. Es handelte sich dabei um eine zierliche runde Zweiggalle von etwa 1 cm Durchmesser. Die Oberfläche ist über und über mit feinen, bis 3 mm langen Stacheln besetzt (Fig. 4). Auf einem Querschnitt sieht man, daß die eigentliche Galle 4—5 mm im Durchmesser beträgt und aus einer großen Zahl ovaler Einzelgallen zusammengesetzt ist, die dicht gedrängt mit ihrer Basis der verdickten Stengelpartie aufsitzen. Die Larvenkammern sind oval, etwa 3 mm lang und 1 mm breit. Die Zahl der Kammern ist nicht leicht festzustellen, es mögen etwa 10—15 oder mehr sein. In einigen der Einzelgallen fanden sich 2 mm lange, stark verschimmelte Puppen. Es scheint sich hier um eine Cecidomyidengalle zu handeln.

In Howard's Handbuch ist für diese Wirtspflanze keine Gallenbildung

angegeben. Dagegen hat Frauenfeld¹⁾ vor 50 Jahren ein Zoocecidium von *Deverra tortuosa* aus Ägypten beschrieben und abgebildet, das eine entfernte Ähnlichkeit mit dem unsrigen aufweist. Diese Galle bestand aus einer traubenartigen Anhäufung von 30—60 ovalen kleinen Einzelgallen. Dagegen fehlte dort der Stachelüberzug. Erzeuger der Galle auf *Deverra tortuosa* ist nach Frauenfeld *Cecidomyia buboniae*.

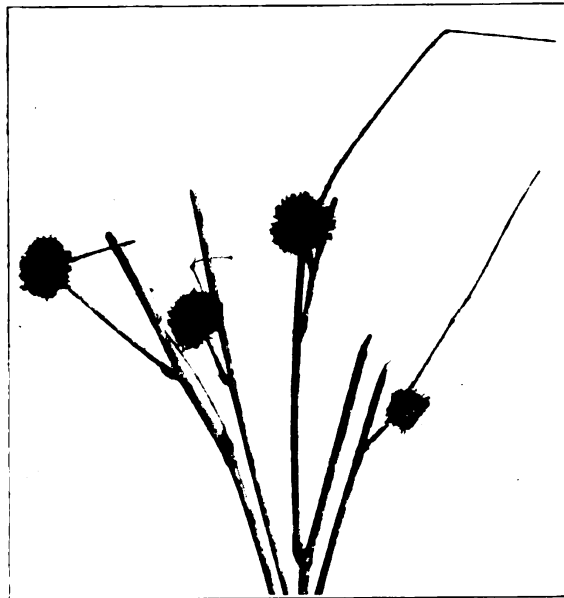


Fig. 4. Stengelgalle auf *Deverra scoparia*.
 $\frac{2}{3}$ nat. Gr.

hat. Houard sammelte bei Saint-Denis-du Sig auf *Lycium intricatum* die Cecidien der gleichen Gallmilben.

Erica arborea L.

Im Wald von Baïnem bei Alger (20. III. 10) und im Korkeichenwald von Terni bei Tlemcen (12. IV. 10) fanden sich an *Erica arborea* häufig letztjährige endständige Stengelgallen von *Perrisia ericina* F. Löw. Dieses Zoocecidium ist in den Mittelmeerländern weit verbreitet.

Lycium europaeum L.

In der Umgebung von Tlemcen sammelte ich am 11. IV. 10 die violetten Blattgallen von *Eriophyes eucricotes* Nal., die schon Marchal in Algerien gefunden

Linaria reflexa Desfont.

Auf *Linaria* arten sind schon eine große Zahl von Zoocecidien bekannt. Stengelgallen werden hier fast immer durch *Mecinus*-Arten verursacht. Diese Käferlarven leben im Innern ein- oder mehrkammeriger Anschwellungen der Stengel.

Auf *Linaria reflexa* sammelte ich am 11. IV. 10 in der Nähe der Cascades bei Tlemcen auffällige, blasenartige Stengelgallen von violetter Farbe. Diese Cecidien wurden an den zirka 6 cm hohen Pflänzchen bis $2\frac{1}{2}$ cm lang und 8 mm breit. Einige waren durch seichte Einschnürungen in mehrere Abschnitte geteilt, denen im Innern je ein Gallenraum entsprach. Andere dagegen, wie z. B. die abgebildete (Fig. 5), zeigten äußerlich eine geringe oder keine Gliederung, enthielten aber doch im Innern mehrere Larvenkammern. Die 4 mm langen, fußlosen Käferlarven gehören wahrscheinlich auch zur Gattung



Fig. 5. Stengelgalle auf *Linaria reflexa*. $\frac{1}{6}$ nat. Gr.

Mecinus.

¹⁾ Frauenfeld, G. von, Über exotische Pflanzenauswüchse, erzeugt von Insekten. (Verhandl. d. zool. bot. Gesellsch. Wien. Bd. 9. 1859. p. 319—332.)

An den Gallen entspringen in gleichem Abstand wie an den normalen Stengeln Blätter und Blüten.

Es mag noch beigelegt werden, daß Herbariummaterial nur ein recht unvollkommenes Bild von der Größe dieser Gallen gibt, indem das parenchymatische Gallengewebe beim trocknen ungemein stark zusammenschrumpft. Zu genauen Untersuchungen ist deshalb frisches oder in Alkohol konserviertes Material unerlässlich.

Artemisia Herba alba Asso.

In der Umgebung von Ain-Sefra sammelte ich (5. IV. 10) die auffällige, runde, weißwollige, etwa 1 cm dicke Knospengalle einer noch nicht näher bestimmten *Rhopalomyia* art, die dort in so großer Menge vorkam, daß stellenweise nahezu alle *Artemisia* pflanzen mit zahlreichen Gallen besetzt waren. Durchschneidet man diese, so findet man unter dem dichten, weißen, oberflächlichen Filz das chlorophyllhaltige, vielkammerige Gallengewebe mit den orangefarbenen Gallmückenlarven.

Echinops spinosus L.

Am Djebel Murdjadjo bei Oran fanden sich am 29. III. 10 zahlreiche taschenförmige Blattgallen von ungefähr $\frac{1}{2}$ cm Durchmesser auf *Echinops spinosus*. Diese Cecidien wölben sich auf der Blattoberseite unregelmäßig halbkugelig hervor. Die blattunterseits gelegene Öffnung ist, wie die Unterseite des Blattes überhaupt und wie das Innere der Galle von einem dichten, weißen Filz bekleidet. Die Gallen treten auf der ganzen Blattfläche verstreut auf, finden sich aber vorwiegend am Blattrand. Sie stimmen in ihrem Aussehen vollständig mit denen überein, die *Rübsaamen* für eine noch nicht näher bestimmte *Echinops* art aus Transkaukasien beschreibt. *Rübsaamen*¹⁾ stellte als deren Urheber eine noch nicht näher untersuchte Eriophyide fest. Für *Echinops spinosus* und für Algerien ist dieses Gallmilben-Cecidium neu.

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,
Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher usw.

- Bericht** über das Auftreten von Feinden und Krankheiten der Kulturpflanzen in der Rheinprovinz im Jahre 1910. Bearb. von Remy u. Lüstner (III. 42 p. m. 2 Taf.) Lex. 8°. Bonn, Landw.-Kamm. f. d. Rheinpr. No. 1. (Nur direkt.) (Veröffentl. d. Landw.-Kam. f. die Rheinprovinz. 1911. No. 3.)
- Prudden, F. M.**, The story of the bacteria. 2. edition. New York 1910. 8°.
- Wohlbolt, H.**, Landwirtschaftliche Schädlinge (60 p. m. 35 Abbild.) kl. 8°. Leipzig Wachmeister u. Thal. 11. Jede No. —.20 M (Lehrmeister-Bibliothek. No. 182. 183.)

¹⁾ *Rübsaamen*, Ew. H., Über russische Zoocecidien und deren Erzeuger. (Bull. Soc. Nat. Moscou. T. 9. 1895. p. 407.)

Systematik, Morphologie.

- Adams, J.**, Two parasitic fungi new to Ireland. (Irish Naturalist. 20. 1911. p. 135.)
- Apstein, C.**, Synchaetophagus balticus, ein in Synchaeta lebender Pilz. (Wiss. Meeresuntersuch. N. F. Bd. 12. 1911. Abt. Kiel. p. 163—166.9 Fig.)
- Apstein**, Parasiten von Calanus finmarchicus. Kurze Mitt. (Wissensch. Meeresunters. N. F. Bd. 13. 1911. Abt. Kiel. p. 205—223. 22 Fig.)
- Cavers, F.**, Iron Bacteria. (Knowledge. Vol. 8. 1911. p. 105.)
- Dubois, Raphael**, Sur les microbioides. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 19. p. 905—907.)
- Froggatt, Walter W.**, Notes on fruitflies (Trypetidae) with descriptions of new species. (Proc. Linnean Soc. New South Wales. Vol. 35. 1910. 11. p. 862—872.)
- Issatschenko, B.**, Die leuchtende Bakterie aus dem südlichen Bug. (Bull. Jard. Imp. bot. St. Pétersbourg. 11. 1911. p. 44—49. [mit deutsch. Resumé.])
- Lindinger, Leonhard**, Beiträge zur Kenntnis der Schildläuse und ihrer Verbreitung 2. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. Heft 11. p. 353—358. M. Fig.)
- Meyer, Arthur**, Notiz über das Aussehen der Bakterien im Ultramikroskop. 4 Fig. (Arch. f. Protistenk. Bd. 24. 1911. Heft 1. S. 76—79.)
- Nieuwenhuis, A. W.**, Wijze om microorganismen uif één cel te Kweeken. (Versl. Kon. Akad. Vet. Amsterdam 1910. p. 523—534. 2 Taf.)

Biologie.

- Arcangeli, G.**, Sul parassitismo di alcuni fungi. (Atti Soc. Toscana sci. nat. Proc. verb. Anno 20. 1911. p. 13—16.)
- Barsacq, J.**, Les parasites de l'Eudémis en Russie. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. N. 935. p. 561—563.)
- Beijerinck, M. W.**, Pigmenter als oxydatie-producten door bakterien gevormd. (Verslag Kon. Akad. Wet. Amsterdam 1911. p. 1092—1103.)
- Faes, H.**, Nouvelles recherches sur le développement et le traitement du mildiou. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. N. 935. p. 545—550.)
- Hausschwamm-Forschungen.** In aml. Aufträge hrsg. v. A. Möller. Jena, Fischer 1911.
- Heft 4. **Brüstlein**, Die bisher bekannten Mittel zur Verhütung von Pilzschäden an Bauhölzern vor dem Einbau. — **Nußbaum, H. Chr.**, Die Sicherung des Holzwerkes der Neubauten gegen Pilzbildung. — **Niemann**, Die Bedeutung der Kondenswasserbildung für die Zerstörung der Balkenköpfe in Außenwänden durch holzzerstörende Pilze. III. 95 p. 19 Fig. 2,50 M.
- Heft 5. **Dickel, Karl**, Die Hausschwammfrage vom juristischen Standpunkte. 2. Beitrag. VII. 70 p. 2 M.
- Henneberg, W.**, Gärungsbakteriologische Wandtafeln für Brauereilaboratorien, technisch-wissenschaftliche Institute usw. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. 28. 1911. No. 47. p. 570—571.)
- Lieske, Rudolf**, Beiträge zur Kenntnis der Physiologie von Spirophyllum ferrugineum, einem typischen Eisenbakterium. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 49. 1911. p. 91—127. 2 Fig.)
- Lindner, P.**, Assimilierbarkeit verschiedener Kohlehydrate durch verschiedene Hefen u. dgl. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. 28. 1911. No. 47. p. 561.)
- Merker**, Untersuchungen über zwei neue Zellulose vergärende Bakterien. (Lotos [Prag] 1910. p. 345—346.)
- Merker, Emil**, Parasitische Bakterien auf Blättern von Elodea. (Centralbl. f. Bak. Abt. II. Bd. 31. 1911. No. 23/25. p. 578—590. 2 Taf. u. 11 Fig.)
- Nüßlin, Otto**, Phylogenie und System der Borkenkäfer (Forts.). (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. Heft 11. p. 333—338. 91 Fig.)
- Roussy, A.**, Sur la vies des champignons dans les acides gras. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 19. p. 884—886.)
- Rübsamen, Ew. H.**, Über deutsche Gallmücken und Gallen (Forts.) (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 7. 1911. Heft 11. p. 350—352. 51 Fig.)
- Schulz, Hermann**, Verzeichnis von Zooecidien aus dem Regierungsbezirk Cassel und angrenzenden Gebieten. (Festschr. d. Ver. f. Naturkunde in Cassel z. Feier s. 75-jähr. Best. 1911. p. 96—194.)
- Söhngen, N. L.**, Microben-lipase. (Versl. kon. Akad. Wet. Amsterdam 1911. p. 1263—1274. 1 Taf.)
- Stahel, Gerold**, Stickstoffbindung durch Pilze bei gleichzeitiger Ernährung mit gebundenem Stickstoff. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 49. 1911. Heft 4. p. 579—615.)

- Stevenson, William**, The distribution of the long lactic Bacteria or lactobacilli. (Journ. of the board of agric. Vol. 18. 1911, No. 4. p. 307—314.)
- Tobler, F.**, Zur Biologie von Flechten und Flechtenpilzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 49. 1911. Heft 3. p. 389—420. I Taf. u. 1 Fig.)
- Vallor, J.**, Sur la formation du périthèce dans le *Chaetomium kunzeanum* Zopf. var. *chlorinum* Mich. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 153. 1911. No. 21. p. 1012—1014.)
- Wüstenfeld, H.**, Der Reinzuchtbildner der Versuchsanstalt. (Die Deutsche Essigindustrie. 1911. No. 44. p. 349—351.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

- Don, John and Chisholm, John**, Modern methods of water purification. (London, Arnold. 1911. 368 p. 8°. 96 Fig. 15 sh.)
- de Montricher, M.**, Epuration des eaux résiduaires dans les rues dépourvues d'égout, les petites agglomérations et les habitations isolées. (La technique sanit. Année 6. 1911. p. 103—109.)

Milch, Molkerei.

- Allemann, O. und Kürsteiner, J.**, Die Ursache einer schwärzlichen Mißfärbung des Emmentalerkäsesteiges. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 21. 1911. No. 48. p. 566—568.)
- Andersen, A. Simonsen**, Säurewecker für die Rahmsäuerung. (Molkerei-Ztg. Jg. 21. 1911. No. 50. p. 589—590.)
- Kooper, W. D.**, Untersuchungen über Mager- und Buttermilch. (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1911. Heft 11. p. 503—511.)
- Morres, Wilh.**, Die Haltbarkeitsprüfung der Milch. (Ztschr. f. d. Untersuchg. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1911. Bd. 22. Heft 8. p. 459—464.)
- Nörvang, Sigurd**, Versuche mit Kühlapparaten für frischgemolkene Milch. (Milch-Ztg. Jg. 40. 1911. No. 47. p. 467—469. [Maelkeritidende Aarg. 24. No. 31. p. 671—673.])
- Rammstedt, O.**, Die Bestimmung des Säuregehaltes der Milch. (Chemiker-Ztg. 1911. No. 131. p. 1218.)
- Schern, Kurt**, Über die historische Entwicklung und prinzipielle Bedeutung biologischer Milchuntersuchungen in klinischer, milchhygienischer und forensischer Bedeutung. (Berliner Tierärztliche Wehnschr. 1911. No. 42. p. 761—768.)
- Staub, W.**, Die Ursachen der rotbraunen Rindenfärbung bei Emmentalerkäsen. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 1911. No. 47. p. 553—554.)
- Wolff, A.**, Die Molkereibakteriologie auf der Hygiene-Ausstellung in Dresden. (Milch-Ztg. 1911. No. 44. p. 435—437.)

Wein, Weinbereitung.

- Voisenet, E.**, Considérations nouvelles sur la maladie de l'amertume des vins dans les rapports, avec la fermentation acrylique de la glycérine. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 937. p. 616—617.)

Bier, Bereitung.

- Francke, Otto**, Einzellenreihafen — oder ein Gemisch von verschiedenen Stämmen solcher — oder natürliche Mischhefe? Eine zeitgemäße gärungsphysik. Skizze üb. Lagerbiere u. Weißbiere u. deren Hefen. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. 28. 1911. No. 45. p. 543—546.)
- Will, H.**, Die Sterilisierung von Wasser zu Reinigungszwecken in der Brauerei. Autoref. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabr. Jg. 39. 1911. No. 48. p. 553—555.)
- , Die Sterilisierung von Wasser zur Reinigung in der Brauerei (Schluß). (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. N. F. Jg. 34. 1911. No. 49. p. 629—634.)

Fleisch.

- Bugge und Kießig**, Über den Keimgehalt der Muskulatur gewerbsmäßig geschlachteter, normaler Rinder. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 22. 1911. Heft 3. p. 69—80.)
- Franke, R.**, Die bisherige gesetzliche Methode der Trichinenschau im Vergleiche mit der Vereinfachung der Trichinenschau nach Reibmann. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1911. Jg. 22. Heft 2. p. 42—51.)

Andere Nahrungsmittel.

- Kühl, Hugo**, Die Probe von Witkins zur Feststellung der Erreger des Schleimigwerdens des Brotes. (Chemiker-Ztg. 1911. No. 143. p. 1321.)

- Schultze, W.**, Dauerwarenprüfungen durch die Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft. (Desinfektion. Jg. 4. 1911. Heft 10. p. 475—483.)
Obstfäule. (Konserven-Ztg. Jg. 12. 1911. No. 49. p. 444—445.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion usw.

- Bach und Blunk**, Zwei biologische Kläranlagen der Emschergenossenschaft. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. 34. 1911. No. 45. p. 821—829. 16 Fig.)
Delepine, S., The study of chemical desinfectants. (Journ. Soc. chem. industry. 1911. No. 6. p. 334.)
Fowler, G. J., and Holton, A. L., Experiments on the bacterial purification of ammonia recovery liquor at Manchester gas works. (Journ. Soc. chem. Industry. 1911. No. 4. p. 180.)
Hengstenberg, Rudolf, Verfahren zum Reinigen von Abwässern mit Gewinnung ihrer Sinkstoffe. D. R.-P. 235 699. (Das Wasser. Jg. 7. 1911. No. 28. p. 954—955.)
Jones, F. W., Frome sewage purification works. (Surveyor. Vol. 40. 1911. No. 1029. p. 410—411.)
Kershaw, G. Bertram, Modern methods of sewage purification. A guide for the designing and maintenance of sewage purification works. London, Griffith & Co. 1911. 35 p. 8°. 36 Taf. u. Fig. 21 sh.
Rolants, E., Rôle de la fosse septique (Septic tank), dans l'épuration biologique des eaux d'égout. (Rev. d'hyg. et de police Sanit. T. 33. 1911. No. 10. p. 949—961.)
Salomon, Hermann, Die städtische Abwässerbeseitigung in Deutschland. Wörterbuchartig angeordnete Nachrichten und Beschreibungen städtischer Kanalisations- und Kläranlagen in deutschen Wohnplätzen. (Abwässer-Lexikon.) 1. Ergänzungsband. Jena, Fischer 1911. V. 589 p. 8°. 2 Taf. u. 116 Fig. 22 M.
Thumm, Karl, Sonderkatalog für die Gruppe Städtereinigung der wissenschaftlichen Abteilung der Internat. Hygieneausstellung Dresden 1911. Unter gleichzeitiger Berücksichtigung des in den anderen Gruppen und in den Industrieabteilungen vorgeführten Materials. Dresden, Hyg.-Ausst. 1911. 179 p. 2 Taf. u. 92 Fig. 8°. 1,50 M.

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- | | |
|---|--|
| <p>Eriksson, Jakob, Rostige Getreidekörner — und die Überwinterung der Pilzspezies, p. 453.
 Feilitzen-Jönköping, Hjalmar von, Noch einmal Azotogen, Nitragin und Naturimpferde, p. 449.
 Fred, Edwin Broun, Eine physiologische Studie über die nitratreduzierenden Bakterien, p. 421.
 Gorini, Costantino, Das Verhalten der säure-labbildenden (acidoproteolytischen) Bakterien des Käses gegenüber niedrigen Temperaturen hinsichtlich ihrer Mitwirkung beim Reifen der Käse, p. 406.</p> | <p>Munk, Max, Bedingungen der Hexenringbildung bei Schimmelpilzen, p. 353.
 Rahn, Otto, Die Stundengärleistung der Einzelzelle von <i>Bacterium lactis acidii</i>, p. 375.
 Schneider, Werner, Zur Biologie der Liliaceen bewohnenden Uredineen, p. 452.
 Schneider-Orelli, Mathilde, Über nordafrikanische Zoocecidien, p. 468.
 —, O., Zur Kenntnis der mitteleuropäischen und des nordamerikanischen <i>Gloeosporium fructigenum</i>, p. 459.
 Vogel, Untersuchungen über das Kalibedürfnis von <i>Azotobacter</i>, p. 411.
 Neue Literatur, p. 477.</p> |
|---|--|

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung **Gustav Fischer** in Jena einzusenden.

Abgeschlossen am 10. Januar 1912.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Nachdruck verboten.

Über die Bildung flüchtiger Säure durch die Hefe nach der Gärung bei Luftzutritt.

Von Dr. A. Osterwalder,

Adjunkt a. d. Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädenswil.
Abteilung für Bakteriologie und Gärungsphysiologie.

Wir haben seiner Zeit beim Studium einer Reihe von Obstwein- und Traubenweihen die Wahrnehmung machen können, daß eine größere Anzahl derselben nach der Gärung bei Luftzutritt in sizilianischem Traubensaft oder Theilersbirnsaft das Wachstum nicht eingestellt oder nur auf die Hautbildung an der Oberfläche beschränkt hatte, wie es nach den Untersuchungen H a n s e n s hätte der Fall sein müssen, sondern in der vergorenen Flüssigkeit in der Bodensatzschicht und auf derselben einige Zeit nach der Gärung ein lebhaftes oft sogar üppiges Wachstum begann und in zahlreichen größeren Kolonien auf der Bodensatzschicht flockige Massen entwickelte von ähnlicher mikroskopischer Beschaffenheit wie die Hautvegetationen an der Oberfläche, während diese letzteren bei einzelnen Hefen sich gar nicht einstellten oder dann nicht in dem Maße, wie dies bei den von H a n s e n und anderen Forschern daraufhin untersuchten Hefen geschah. Wir schrieben damals über das Aussehen der Bodensatzschichten unserer Hefen nach der Gärung u. a. folgendes¹⁾: „Die Bodensatzschichten der Hefen Ay, Champagne und Meggen können noch monatelang glatt und diejenigen von Aßmannshausen und Steinberg leicht gekräuselt bleiben, während bei den übrigen Hefen schon vor Beendigung der Gärung des Theilersbirnmestes die gekräuselte Bodensatzoberfläche flockig wird, um schließlich zu einer einige Millimeter dicken Flockenschicht auszuwachsen (Fig. 8. Taf. II). So zeigten von sämtlichen Hefen, die am 8. Juni 1901 in Flaschen à 50 ccm mit Theilersbirnsaft gebracht wurden, am 30. September noch eine glatte bis feingekräuselte Bodenschicht: Champagne, Ay, Meggen, Aßmannshausen und Steinberg; bei Erbach, Hutzenwil, Bießenhofen, Engishofen und Malters erreichte die Flockenschicht (der feste Bodensatz nicht mitgerechnet) zu dieser Zeit bereits eine Höhe von 3—4 mm, während bei Egnach und Wädenswil die betreffende Schicht ungefähr 1 mm hoch lag. Auch die Flockenbildung, die übrigens durch Luftzutritt bedeutend gefördert wird, indem sich die mit Wattestopfen und Papierhaube verschlossenen Flaschen ganz erheblich von denjenigen mit Gärverschlüssen unterscheiden, tritt bei Versuchen mit Theilersbirnsaft als konstante Erscheinung auf, und wenn wir unsere Hefen in dieser Hinsicht ordnen wollen, so werden immer an der Spitze als solche Hefen, die am meisten Flocken bilden, zu treffen sein: Erbach, Bießenhofen, Hutzenwil, dann Malters, Egnach, Engishofen und Wädenswil und am Ende als Hefen ohne Flockenbildung:

¹⁾ Beiträge zur Morphologie einiger Saccharomyceten-Arten, insbesondere zur Kenntnis unserer Obstweinhefen. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1903.)

Steinberg, Aßmannshausen, Ay und Champagne Es ist uns nicht unbekannt, daß flockige Schichten am Boden auch durch herunterfallende Trümmer von Kahlhäuten sich bilden können. Aderhold erwähnt z. B. von einigen Hefen, daß bei denselben die Kahlbildung nur auf einzelne Inseln beschränkt blieb, die schließlich einzeln zu Boden sanken und hier eine dicke, flaumige Schicht zu bilden vermochten. Daß die Flockenschicht bei unseren Hefen auf andere Weise, nämlich durch Auswachsen der oberen Bodensatzschicht entsteht, ist bereits schon angedeutet worden und leicht an der an ein Wollfließ erinnernden Struktur der dicht gedrängt stehenden strähneartigen Flocken zu erkennen; von der Mitwirkung einer Kahlhaut kann keine Rede sein, da während der Flockenbildung im Theilersbirnsaft eine solche nicht auftritt; höchstens können sich bei Erschütterungen herunterrutschende Wandflöckchen dabei beteiligen.“

In einer späteren Arbeit: Weitere Beiträge zur Kenntnis unserer Obstweinhefen¹⁾, wo wir wieder eine größere Anzahl Heferassen, meistens Vertreter des *Saccharomyces Pastorianus*-Typus einer eingehenden Prüfung auf ihre Morphologie unterzogen, machten wir von neuem auf dieses Wachstum in der Flüssigkeit auf der Bodensatzschicht nach der Gärung aufmerksam. Auch dort lernten wir diese nachträgliche Entwicklungsform meist in Gestalt von Flockenbildungen auf dem Bodensatz als morphologisches Merkmal kennen, das sich als konstant erwies in qualitativer wie quantitativer Richtung. Wir greifen auch jenen die geschilderte Entwicklungsform betreffenden Passus aus der zitierten Arbeit heraus: „Nach monatelangem Stehen bilden sich in den mit Wattebausch verschlossenen Fläschchen mit Theilersbirn- oder Traubensaft keine Haut- oder Ringvegetationen; dagegen treten im Bodensatz, besonders im Traubensaft, jene typischen aus mycelialen Zellverbänden zusammengesetzten Flockenbildungen auf, die nach und nach bei ruhigem Stehen zu einer voluminösen, dem Bodensatz direkt aufliegenden, mehr oder weniger hohen Flockenschicht auswachsen. Das mikroskopische Bild dieser Flocken sowohl als auch ihr zeitliches Auftreten sprechen dafür, daß die Flockenbildung an Stelle der Hautvegetationen auftritt. Wir können sie auch als konstante Erscheinung bei der Diagnose der verschiedenen Hefen verwerten usw.“

Bislang war man der Meinung Hansens, wonach die Hefen nach der Gärung ihr Wachstum in der Bodensatzschicht einstellen und nur an der Oberfläche in den Häuten weiterwachsen. So schreibt z. B. Aderhold in seinen „Untersuchungen über reine Hefen²⁾“: „In dem Entwicklungsgange einer frisch angesetzten Hefekultur lassen sich folgende Stadien unterscheiden:

1. Stadium: Die eingetragenen Hefezellen wachsen und vermehren sich. Ihr Inhalt ist dabei homogen, klar und durchsichtig und meist von 1—3 Vakuolen durchsetzt. Die Gärung ist kaum merklich — sprossende Hefe.

2. Stadium: Die Gärung nimmt zu, erreicht den Höhepunkt und fällt allmählich. Die Sprossung der Hefe hat infolge der Einwirkung der Kohlensäure auf das Leben der Organismen beinahe oder vollständig aufgehört. Der Inhalt der Zellen ist homogen, klar und durchsichtig, anfangs noch vakuolig — gärende Hefe.

3. Stadium: Die Gärung ist beendet, die Hefe setzt sich zu Boden und geht in den Ruhezustand über. Der Inhalt der Zellen nimmt eine körnige Beschaffenheit an — ruhende Hefe.

4. Stadium: Bei ruhigem Stehen der Kulturen und bei genügendem Luftzutritt zur Oberfläche der vergorenen Flüssigkeit beginnen die schwimmenden Hefezellen von

¹⁾ Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 16. 1906. p. 35.

²⁾ Landwirtschaftl. Jahrb., herausg. von H. Thiel. Bd. 23. 1894. p. 601.

neuem zu sprossen. Die Zellen bleiben zu mehr oder weniger festen Sproßverbänden vereinigt. Letztere sinken zum Teil zu Boden, zum Teil bleiben sie als kleine, graue, schleimige Inselchen schwimmend auf der Oberfläche. Solche Verbände bilden sich namentlich auch an den Wänden des Kulturgefäßes in Höhe des Flüssigkeitsspiegels und bilden hier meistens einen zusammenhängenden Ring um das ganze Gefäß herum. Der Zellinhalt ist zum Teil wie der sprossender, zum Teil wie der ruhender Zellen — Rahmformen (Rahmhäute).

5. Stadium: In den Zellen der Rahmhäute treten Sporen auf — sporenbildende Hefe.“

Und an einer anderen Stelle äußert sich derselbe Forscher wörtlich: „Die Regeneration der zu Boden sinkenden Hautpartien sah ich monatelang, ja selbst länger als ein Jahr fort dauern, ein Beweis dafür, daß selbst in einer vollständig vergorenen Flüssigkeit die Hefe noch genügende Existenzbedingungen findet, sofern sie sich nur des Zutrittes von Sauerstoff erfreut. Dieses Gas ist aber zur Bildung der Häute ein unerläßliches Moment, und ich bin überzeugt, daß sich die Hefesprossung in ausgegorenen Flüssigkeiten bloß deshalb auf die Oberfläche beschränkt, weil in den tieferen Partien derselben der Sauerstoff fehlt usw.“

Jörgensen kennt ebenfalls neben einer Bodensatzschicht, die sich während der Gärung bildet, nur die Haut- und Hefenringbildung. „Wenn man Kulturen in Würze kürzere oder längere Zeit bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ungestört stehen läßt, zeigen sich bei der Beendigung der Hauptgärung nach und nach kleine Hefenflecken an der Oberfläche der Flüssigkeit; diese können später zu Figuren verschiedener Form und Größe zusammenfließen, zu Inseln, deren aufwärts gekehrter Teil flach, deren untergetauchter Teil aber gewölbt ist. Zuletzt schmelzen sie zu einer zusammenhängenden, meist hell graugelben schleimigen Haut zusammen, welche häufig an der Wand des Glases als ein ganzer Ring fortgesetzt werden kann. Eine solche vollständige Hautbildung tritt zuerst auf, wenn die Hauptgärung beendet ist. Schüttelt man den Kolben, dann werden einzelne Fetzen der Haut losgerissen und sinken zu Boden, und es kann sich in dieser Weise nach und nach eine ganze Schicht am Boden anhäufen, während die Haut sich immer erneuert Die Bedingung dafür, daß die Haut gebildet werden kann, ist eine freie, ruhige Oberfläche mit Zutritt der atmosphärischen Luft, und eine kräftige Hautbildung setzt eine reichliche Luftzufuhr voraus.¹⁾“ Über ein nachträglich intensives Wachstum der Hefe in der Flüssigkeit auf der Bodensatzschicht nach der Gärung äußert sich Jörgensen ebenfalls nirgends. Vergeblich suchen wir ferner danach im Handbuch der Technischen Mykologie, herausgeg. von L a f a r Bd. 4. Abschn. I, Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Anatomie der Saccharomyceten und Schizosaccharomyceten: 1. Kapitel, Allgemeine Morphologie und Entwicklungsgeschichte, bearbeitet von A. K l ö c k e r. Auch dieser Forscher spricht nur von der Bodensatzhefe, die sich während der Gärung absetzt und von einer Vegetation an der Oberfläche von Flüssigkeiten, eben der Hautbildung. Allerdings schreibt K l ö c k e r: „Bei der oben gegebenen Beschreibung der Zellgestalten der Bodensatzhefe und der Sonderung aller Hefen danach in 3 Gruppen war vorausgesetzt worden, daß die der Betrachtung unterzogenen Proben aus frischen Zuchten genommen waren, d. h. aus solchen, in denen die Hauptgärung eben vorüber und die am Grunde der Flüssigkeit liegende Hefenernte vor kurzem erst fertig geworden ist. Anders hingegen ist das Bild der Zellen eines Depots, welches schon durch längere Zeit unter der ausgegorenen Flüssigkeit gelegen hat, also in alten Zuchten des Laboratoriums oder im Geläger. Mit

¹⁾ J ö r g e n s e n , A., Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. Berlin 1909. p. 301.

diesem letzteren Ausdruck wird in der Praxis der Brauerei der Hefenabsatz belegt, welcher sich im Lagerfaß ansammelt und also aus Zellen besteht, welche die ganze Lagerzeit (oft viele Monate hindurch) der Einwirkung des darüber stehenden Bieres ausgesetzt waren. Unter solchem Einflusse entstehen viele gestreckte Zellgestalten selbst bei solchen Stämmen, welche auf Grund der Gestalten ihrer frischen Satzhefe zum ausgeprägten *Cerevisiae*-Typus gehören.“ (p. 491.)

Daß dieses Geläger nichts mit den Hefebildungen zu tun hat, die wir im Auge haben, geht aus dem Wortlaut deutlich genug hervor, indem wir in den Hefeflockenbildungen oder neuen Hefeschichten über dem während der Gärung entstandenen Bodensatz nicht einen Hefenabsatz zu erblicken haben, welcher sich im Gefäß ansammelt, sondern eine Neubildung an Ort und Stelle, wo sie nach der Gärung zuerst beobachtet wird, was übrigens schon daraus hervorgeht, daß während der Bildung der Hefeflocken oder neuen Hefeschichten keine Trübung entsteht und der Wein völlig klar bleibt.

Wir hätten es unterlassen, hierauf zurückzukommen und die Aufmerksamkeit von neuem auf diese dritte Art des Hefewachstums, die aerobe Hefebildung auf der Bodensatzschicht nach der Gärung zu lenken, wenn wir nicht beim Studium einer neuen Serie von Weinhefen aus der französischen Schweiz auf eine neue Erscheinung gestoßen wären, die mit den genannten Neubildungen der Hefe, welche in der vergorenen Flüssigkeit bei Luftzutritt sich einstellen, im engen Zusammenhang stehen muß. Wir meinen die Bildung größerer Mengen flüchtiger Säuren nach der Gärung.

Über die Frage, ob Essigsäure bei der Gärung der Hefe gebildet wird, ob diese Säure ein Nebenprodukt der alkoholischen Gärung sei, ist seiner Zeit, als man noch nicht in der glücklichen Lage war, mit Reinkulturen arbeiten zu können, viel gestritten worden, bis dann durch *Béchamp* und *Ducoux* die Frage zugunsten der Essigsäurebildung durch die Hefe entschieden wurde. Man hat dann in dieser Erkenntnis noch einen Schritt weiter getan, indem man feststellte, daß die verschiedenen Heferassen auch verschiedene Mengen Essigsäure während der Gärung zu bilden vermögen, so *Prior* bei einer Anzahl Hefen in Bierwürze, *Reisch* bei verschiedenen Weinhefen im Traubensaft. In der Tat, wer häufig Gelegenheit hat, Reinhefegärungen sei es im Trauben- oder Obstsaft, zu verfolgen und zu studieren, wird keinen Augenblick daran zweifeln, daß Essigsäure bei der Gärung gebildet wird, indem regelmäßig eine Zunahme der flüchtigen Säure im vergorenen Weine im Vergleich zu derjenigen im unvergorenen sterilen Saft sich einstellt und außerdem kann man beobachten, wie die einzelnen Heferassen sich in dieser Hinsicht verschieden verhalten, wie einzelne durch eine stärkere Bildung von flüchtiger Säure sich auszeichnen, während bei anderen nur eine geringe Zunahme stattgefunden hat. In bezug auf die Menge, welche als Maximalwert für die durch die Gärtätigkeit gebildete Essigsäure festgesetzt werden kann, ist *W. Seifert* zu dem Schlusse gelangt, daß sie 0,6 g in 1 Liter nicht wesentlich übersteigt, welche Angabe *Reisch* an Hand seiner Versuche bestätigen kann. Um die Frage zu prüfen, wie sich die Bildung der Essigsäure auf die einzelnen Stadien der Gärung verteile, hatte letzterer Forscher Versuche ausgeführt, die ergaben, daß zu Beginn, zu einer Zeit, wo zwar noch keine merkliche Alkoholbildung, wohl aber ein der Vermehrung der Hefe zugute kommender Zuckerverbrauch stattfindet, keine nennenswerten Mengen von Essigsäure erzeugt werden. „Sofort nach Eintritt der eigentlichen Gärung können wir aber ein plötzliches starkes

Anwachsen des Essigsäuregehaltes beobachten, welches sehr bald eine starke Abschwächung erleidet und ganz aufhört. In unseren Versuchen war eine weitere Vermehrung der Essigsäure nicht mehr zu konstatieren, als der Zucker zur Hälfte vergoren war, bezw. der gebildete Alkohol die Hälfte der im ganzen produzierten Menge erreicht hatte¹⁾).

Seifert und Reisch faßten bei ihren Untersuchungen die Essigsäurebildung während der Gärung ins Auge. Damit ist nun aber das Problem der Essigsäurebildung der Hefe, abgesehen von dem „Wie“ derselben, nur halbwegs gelöst, indem wir heute in der Lage sind, zu zeigen, daß bei Luftzutritt die Bildung der flüchtigen Säure auch nach der Gärung noch weiter schreitet und eine Höhe zu erreichen vermag, wie dies bis anhin in Säften normaler Zusammensetzung²⁾ nicht bekannt war. Daß dieser Vorgang im engen Zusammenhang mit der Neubildung von Hefe in und auf der Bodensatzschicht steht, mag entschuldigen, wenn wir eingangs dieser Mitteilung nochmals auf jenes eigenartige Wachstum zu sprechen kamen.

Aus einer größeren Anzahl gärender Traubensäfte und Weine der Kantone Wallis, Waadt und Neuenburg isolierten wir im Laufe des Herbstes 1909 mittels Plattenkultur und Lindnerscher Tröpfchenmethode eine größere Reihe von Hefen, die zunächst auf ihre Gärkraft geprüft wurden. Nachdem wir dann unter den gärkräftigsten eine Auswahl getroffen hatten, denen wir noch etliche uns besonders interessant erscheinende Hefen gleicher Herkunft, die wir zur Gattung *Torulaspora* Lindner zählen, beifügten, machten wir uns an das morphologische Studium derselben, d. h. wir studierten das Aussehen der Bodensatzschicht nach der Gärung, die Hautbildung, Sporenbildung, so ganz nach dem Schema, an das sich Hansen bei seinen Untersuchungen über Hefen hielt. Sofern bei den Versuchen über Hautbildung auch wieder die bekannten Flockenbildungen oder neuen Hefeschichten nach der Gärung auf dem Bodensatz auftreten sollten, was zu erwarten war, wollten wir bei dieser Gelegenheit dann, in Abweichung von früheren ähnlichen Versuchen, auch den chemischen Veränderungen dieser Weine hinsichtlich des Gehaltes an Gesamtsäure und flüchtiger Säure unsere Aufmerksamkeit schenken.

In kleineren Fläschchen mit ca. 30 ccm Traubensaft wurden die betreffenden Hefen zunächst vorgezüchtet und nach 4 Tagen Gärung am 8. Oktober in größere 300 ccm Flaschen mit je 250 ccm sterilisiertem Theilersbirn-, resp. sizil. Traubensaft mittels einer Platinöse ausgesät. Die Flaschen, mit Wattestopfen und Papierhaube versehen, standen in einem Schrank bei ca. 16° C. Obgleich nun die Flaschen sich selbst überlassen blieben, so stellte sich doch während einer längeren Frist nur in wenigen derselben, sowohl im Theilersbirn- wie Traubenwein, vollkommene Hautbildung ein. Am 28. Oktober wiesen in den Flaschen mit Theilersbirnwein Siders 5 und Siders 4 schwache Hefenringbildung auf; vereinzelte Hautinseln an der Oberfläche fanden sich bei Chardonnay 3, dann besonders bei Siders 5, etwas weniger bei Cully 4, Sitten 3, Dézaley 2, Chardonnay 1 und Siders 4. Bei den übrigen fehlte sowohl Hefenring- als Hautbildung. Am 14. November war der Befund noch ein ähnlicher; nur zeigte jetzt auch Sitten 4 Hefen-

¹⁾ Reisch, R., Zur Entstehung von Essigsäure bei der alkoholischen Gärung. (Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. 14. 1905. p. 572.)

²⁾ Siehe z. B. von der Heide, R., Über die Bildung abnormer Mengen flüchtiger Säure durch die Hefe in zuckerreichen vergorenen Mosten. (Ber. d. Lehranst. Geisenheim a. Rh. f. 1907. p. 254.)

ringbildung, während zu den Flaschen mit Hautinseln an der Oberfläche sich noch Steinberg 3 gesellte, eine unserer besten Weißweihen, die wir lediglich zum Vergleich zu unserem Versuch heranzogen. Über das Aussehen der Weine, mit Bezug auf Haut- und Hefenringbildung am 27. Februar, orientiert Tabelle Ia. Zu dieser Zeit schritten wir bei einer Serie von Flaschen (es wurden von jedem Saft je 2 Flaschen mit derselben Heferasse aufgestellt) zur chemischen Untersuchung, wobei wir unser Augenmerk speziell auf Gesamtsäure, flüchtige Säure und bei vereinzelt auch auf Alkohol und Zucker richteten. Da die Flaschen ursprünglich zur Beobachtung der Hautbildung aufgestellt wurden, sahen wir von einer Analyse einer sterilen Probe ab; dessenungeachtet können wir leicht die Veränderungen in den vergorenen Weinen aus unserer Tabelle Ia, in der die Ergebnisse der chemischen Analyse zusammengestellt sind, erkennen.

Tab. Ia u. Ib.

Unter den Resultaten fällt uns wohl in erster Linie bei einzelnen Hefen (von Schafis 1 oder Cully 4 [Tabelle Ib] an aufwärts bis Siders 5) der hohe Gehalt an flüchtiger Säure auf, die in so großen Mengen erzeugt wurde, wie dies sonst bei den mit Reinhefe vergorenen Obst- und Traubenweinen nicht der Fall ist. Zu den Hefen, die sich durch einen niedrigeren Gehalt an flüchtiger Säure auszeichnen, gehören Steinberg 3, eine unserer gärkräftigsten Hefen, Chardonnay 1 und 3, zwei pastoriane Heferassen, von denen die eine, Chardonnay 3, zu den gärkräftigeren gehört, während Chardonnay 1 mehr zu den mittelmäßigen, eher noch gärschwächeren zählt, ferner drei Torulahefen, gärschwache Hefen, die aber bei längerer Zeitdauer immerhin bis 5 und 6 Gewichtsprozent Alkohol zu erzeugen vermögen; mit Ausnahme von Steinberg 3 also meistens gärschwache Hefen, während sich unter den Hefen mit viel flüchtiger Säure nur gärkräftige Heferassen vorfinden. Hinsichtlich der morphologischen Beschaffenheit der verschiedenen Heferassen müssen wir die Hefen Siders 5, Dézaley 2, Sitten 3, Siders 4, Neuenburg 2, Neuenburg 4, Cully 4, Schafis 1, Steinberg 3 zum *Saccharomyces ellipsoideus*-Typus rechnen, obwohl dieselben z. B. im Theilersbirnsaft auch längere pastoriane Formen bilden, allerdings nicht in der Menge, wie reine Vertreter des *Saccharomyces Pastorianus*-Typus es zu tun vermögen. Chardonnay 1 und Chardonnay 3 rechnen wir zum *Sacch. Pastorianus*-Typus; die übrigen 3, Siders 3, Sitten 4 und Sitten 8 sind, wie schon erwähnt, Torula-Rassen, d. h. sie bilden kugelförmige bis rund-elliptische kleine Zellen von ca. 5—6 μ Durchmesser.

Bemerkenswert ist, daß die Hefen mit dem außergewöhnlich hohen Gehalt an flüchtiger Säure auch am meisten Gesamtsäure aufweisen, was darauf hindeutet, daß die flüchtige Säure nicht etwa durch Abbau der nicht flüchtigen Säure entstanden ist, sondern aus irgendeiner anderen Verbindung gebildet wurde, wie dies z. B. bei den Milchsäurebakterien in noch zuckerhaltigen Weinen eintritt, wo aus Zucker Milch- und Essigsäure entstehen, so daß dadurch der Gesamtsäuregehalt einen mehr oder weniger großen Zuwachs erfährt. In Übereinstimmung mit diesem Verhalten stehen auch die Mengen nicht flüchtiger Säuren, indem wir zwischen den Hefen mit wenig und denjenigen mit viel flüchtiger Säure keine derartigen Unterschiede konstatieren können, die etwa auf Abbau von nicht flüchtiger Säure hindeuten. Im Gegenteil weist z. B. Steinberg 3 1 Proz. weniger nichtflüchtige Säure auf als die Hefe Dézaley 2 mit viel flüchtiger Säure.

Am 24. März wurden noch die übrigen Flaschen mit den nämlichen

Tabelle Ia.
Theilersbirnsaft, mit verschiedenen Hefen bei Luftzutritt vergoren.
Untersucht am 27. Februar 1911.

Hefe	Gesamtsäure als Äpfelsäure g pro l	Flüchtige Säure als Essigsäure g pro l	Nicht flüchtige Säure als Äpfelsäure g pro l	Alkohol g pro l	Zucker g pro l	Sonstige Bemerkungen
Siders 5 (Fendant)	7,57	1,77	5,59	49,86	1,34	Zahlreiche größere u. kleinere Hautinseln
Dézaley 2	7,27	1,30	5,81	—	—	dito
Sitten 3	6,50	1,19	5,18	—	—	dito
Siders 4 (Dôle)	6,56	1,15	5,28	—	—	dito
Neuenburg 2 (Pinot)	5,83	0,90	4,83	50,73	—	Keine Hautbildung
Neuenburg 4 (Fendant)	6,29	0,85	5,34	—	—	Wenig Hautinseln
Cully 4	6,29	0,84	5,36	49,38	0,99	Zahlreiche Hautinseln
Schafis 1	5,96	0,67	5,21	52,18	0,91	Keine Hautbildung
Steinberg 3	5,26	0,35	4,87	48,36	1,72	Zahlreiche Hautinseln
Siders 3 (Torulaspora)	5,49	0,32	5,13	50,92	—	Keine Hautbildung
Sitten 4 (Torulaspora)	5,09	0,25	4,81	48,36	—	Ziemlich breiter Hefenring
Chardonnay 3	5,42	0,16	5,24	—	—	Zahlreiche Hautinseln
Sitten 8 (Torulaspora)	4,89	0,08	4,80	—	—	Keine Hautbildung
Chardonnay 1	5,76	0,07	5,68	52,84	1,59	Zahlreiche Hautinseln

Tabelle Ib.

Untersucht am 24. März 1911.

Hefe	Gesamtsäure als Äpfelsäure g pro l	Flüchtige Säure als Essigsäure g pro l	Nicht flüchtige Säure als Äpfelsäure g pro l	Alkohol g pro l	Zucker g pro l	Sonstige Bemerkungen
Siders 5 (Fendant)	7,23	1,67	5,38	46,50	1,21	Zirka $\frac{1}{3}$ der Oberfläche mit Hautinseln bedeckt
Dézaley 2	7,37	1,62	5,57	45,66	1,01	Schwache Hefenringbildung
Siders 4 (Dôle)	6,77	1,42	5,20	46,62	1,43	Wenig Hautinseln; schwache Hefenringbildung
Sitten 3	6,83	1,33	5,35	48,42	1,02	Zirka $\frac{1}{3}$ der Oberfläche mit Hautinseln bedeckt
Schafis 1	6,23	1,18	4,92	48,78	0,89	dito
Neuenburg 4 (Fendant)	5,96	0,97	4,89	49,20	—	Keine Haut- und keine Hefenringbildung
Neuenburg 2 (Pinot)	5,90	0,90	4,90	48,54	—	dito
Cully 4	6,30	0,84	5,37	47,76	0,92	dito
Steinberg 3	5,43	0,48	4,90	42,40	0,98	Wenig Hautinseln
Sitten 8 (Torulaspora)	5,16	0,42	4,70	49,74	2,18	Dicke Kahlhaut
Siders 3 (Torulaspora)	5,49	0,36	5,09	53,74	—	Ganz geringe Hefenringbildung
Chardonnay 3	5,16	0,20	4,94	46,74	1,42	Keine Haut- und keine Hefenringbildung
Chardonnay 1	5,96	0,13	5,82	46,26	1,98	Dicke Kahlhaut
					1,61	Zahlreiche Hautinseln

Hefen in ähnlicher Weise untersucht. Die Verhältnisse haben sich laut Tabelle I b seit der ersten Untersuchung nicht wesentlich geändert. Es sind wieder dieselben Hefen mit viel und dieselben mit wenig flüchtiger Säure; stellenweise folgen sich die Hefen sogar wieder in derselben Reihenfolge im Gehalt von Gesamtsäure wie an flüchtiger Säure, so daß wir das geschilderte Verhalten der Hefen nicht etwa als eine zufällige Erscheinung auffassen dürfen, sondern als konstante Eigenschaft, die, wie wir sehen werden, auch in andern flüssigen Medien sich äußert.

Neben den chemischen Daten haben wir noch das Verhalten hinsichtlich Hautbildung und Hefenringbildung erwähnt. Ein Zusammenhang zwischen diesen letzteren und der flüchtigen Säure kann aber nicht herausgefunden werden; vergleichen wir nur in dieser Richtung in Tabelle I a Siders 5 mit zahlreichen größeren und kleinern Hautinseln und 1,77 pro Mille flüchtiger Säure mit Chardonnay 1 mit ebenfalls zahlreichen Hautflecken aber nur 0,07 pro Mille flüchtiger Säure oder mit Steinberg 3. Ferner sei auf Neuenburg Pinot 2 oder Schafis 1 verwiesen, wo, trotzdem keine Haut- oder Hefenringbildung eintrat, der Gehalt an flüchtiger Säure auf 1,18 pro Mille stieg.

Ganz ähnlich ist das Verhalten der Hefen im sizil. Traubensaft, wo die Hautbildung bis zum 25. Februar, d. h. bis zum Datum der ersten Untersuchung in noch geringerem Grade auftrat als im Theilersbirnwein, indem mit Ausnahme von Sitten 3, Dézaley 2, Chardonnay 3, wo zahlreiche Hautflecken erschienen, resp. dicke Hefenringe sich bildeten, sich sonst nirgends Haut- oder Hefenringbildung bemerkbar machte. Im übrigen Verhalten hinsichtlich flüchtiger Säure, Gesamtsäure und nicht flüchtiger Säure überrascht uns eine auffallende Ähnlichkeit zwischen den beiden Weinen. Wenn auch nicht genau in derselben Reihenfolge wie im Theilersbirnwein, so finden wir unter den Hefen mit viel flüchtiger Säure doch wieder dieselben Hefenrassen wie früher. Siehe Tabelle II a.

(Tabelle II a und II b.)

Nach dem Gesamtsäuregehalt und der nicht flüchtigen Säure können wir auch hier die gebildete flüchtige Säure nicht etwa einem Abbau von nicht flüchtiger Säure zuschreiben. Mit den Resultaten vom 25. Februar stimmen die Analysenergebnisse der am 1. April 1911 untersuchten übrigen Flaschen, mit Ausnahme geringer Schwankungen, überein, so daß wir davon absehen können, dasselbe zu wiederholen (siehe Tabelle II b). Nur auf eines möchten wir bei dieser Gelegenheit noch die Aufmerksamkeit lenken. Im Trauben- wie namentlich im Theilersbirnwein weisen die Hefen Dézaley 2 und Chardonnay 1 am meisten nicht flüchtige Säure auf; ohne Zweifel haben sie solche gebildet, so daß also Dézaley 2 sowohl flüchtige Säure wie auch nicht flüchtige Säure produzierte, während sich Chardonnay 1 nur auf Bildung nicht flüchtiger Säure beschränkte.

Ob zwischen Hautbildung und flüchtiger Säure ein kausaler Zusammenhang bestehe, geht namentlich deutlich aus Tabelle II b hervor. Bei Steinberg 3 und Chardonnay 3 mit den dicken Kahmhäuten im Theilersbirnwein (Tabelle I b) könnte man noch den Einwand erheben, daß flüchtige Säure wohl durch die Hautvegetationen gebildet, dann aber durch dieselben Organismen weiter zu CO_2 und H_2O oxydiert worden seien, wie ja R a y m a n n und K r u i s nachgewiesen haben, daß die Zellen der Häute die Fähigkeit besitzen, den durch die Gärung erzeugten Alkohol zu CO_2 und H_2O zu

Tabelle IIa.
Sizilianischer Traubensaft, mit verschiedenen Hefen bei Luftzutritt vergoren.
 Untersucht am 25. Februar 1911.

Hefe	Gesamtsäure als Weinsäure g pro l	Flüchtige Säure als Essigsäure g pro l	Nicht flüchtige Säure als Weinsäure g pro l	Sonstige Bemerkungen
Sitten 3	5,92	1,81	3,66	Keine Ringbildung. An der Oberfläche ziemlich viel Hautinseln.
Dézaley 2	6,15	1,70	4,02	Ziemlich breiter Hefenring. Zahlreiche Hautinseln.
Siders 5 (Fendant)	4,95	1,22	3,42	Kein Hefenring und keine Hautbildung.
Neuenburg 2 (Pinot)	4,50	0,93	3,33	" "
Neuenburg 4 (Fendant)	4,42	0,78	3,46	" "
Siders 4 (Dôle)	4,57	0,76	3,61	" "
Schafis 1	4,42	0,66	3,60	" "
Cully 4	4,50	0,44	3,96	" "
Sitten 8 (Torulaspora)	3,82	0,40	3,31	" "
Siders 3 (Torulaspora)	4,65	0,39	4,16	" "
Chardonnay 1	4,42	0,31	4,03	" "
Sitten 4 (Torulaspora)	3,90	0,27	3,56	" "
Chardonnay 3	3,90	0,24	3,60	" "
Steinberg 3	3,67	0,19	3,43	Dicker Hefenring " wenig Hautinseln. Dicker Hefenring und wenig Hautinseln.

Tabelle IIb.

Untersucht am 1. April 1911.

Sitten 3	5,62	1,83	3,33	Dicke Kahmhaut; ziemlich breiter Hefenring.
Siders 5 (Fendant)	5,47	1,62	3,45	Ziemlich breiter Hefenring auf dem halben Umfang. Keine Haut.
Dézaley 2	5,92	1,53	4,01	Dicke Kahmhaut und ziemlich breiter Hefenring.
Neuenburg 2 (Pinot)	5,25	1,26	3,68	Schwache Hefenringbildung. Keine Haut.
Neuenburg 4 (Fendant)	4,95	1,16	3,50	Keine Haut und kein Hefenring.
Cully 4	4,80	1,03	3,51	Auf dem halben Umfang dicker Hefenring. Keine Haut.
Schafis 1	4,50	0,73	3,59	Ganz geringe Ringbildung. Keine Haut.
Siders 4 (Dôle)	4,20	0,67	3,36	Ziemlich breiter Hefenring. Keine Haut.
Steinberg 3	3,60	0,42	3,08	Ziemlich breiter Hefenring. Dicke Kahmhaut.
Chardonnay 3	3,67	0,32	3,27	Breiter Hefenring. Dicke Kahmhaut.
Siders 3 (Torulaspora)	4,42	0,32	4,02	Schwache Ringbildung. Keine Haut.
Sitten 8 (Torulaspora)	3,82	0,25	3,51	" "
Chardonnay 1	4,50	0,21	4,24	" "

oxydieren. In den am 1. April untersuchten Flaschen mit Traubenwein zeichnen sich aber neben Steinberg 3 und Chardonnay 3 auch Sitten 3 und Dézaley 2, zwei Hefen mit viel flüchtiger Säure, durch dicke vollständige Kahmhäute aus, so daß man wohl annehmen darf, die großen Mengen flüchtiger Säure rühren weder von den Häuten her, etwa als Zwischenstufe einer Oxydation, noch werden dieselben durch die Hautvegetationen vorweg zerstört, d. h. zu CO_2 und H_2O oxydiert.

Bei der Untersuchung des Trubes konnten wir in beiden Weinen die uns bekannten Neubildungen von Hefezellen seit der Gärung und Klärung in größeren Mengen feststellen. Bei den meisten Flaschen der verschiedenen Hefen fielen einem schon ohne weiteres die weißen Schichten über der braunen alten Bodensatzhefe oder auf der Bodenfläche neben dem alten Bodensatz als weißer Kragen auf, der sich bis zum Rand der Flasche ausdehnte, so bei Neuenburg Pinot 2, Schafis 1, Sitten 3, Siders 4, Cully 4, Neuenburg Fendant 4, Sitten 8 im Theilersbirnwein am 24. März oder bei Siders 5, Chardonnay 1, Neuenburg Fendant 4, Neuenburg Pinot 2, Cully 4, Siders 4, Siders 3 im Traubenwein. Diese nach der Gärung entstandenen Hefen erwiesen sich, wie vorauszusehen war, als frische plasmareiche junge Zellen mit oder ohne Vakuolen, die sich in dieser Richtung nicht unterscheiden ließen von frischer sprossender Hefe in einem unvergorenen Saft, im Gegensatz zu den plasmarmen Hefezellen des bei der Gärung entstandenen, jetzt aber im ruhenden Zustand sich befindlichen Bodensatzes. Nur bestanden hier, je nach der Heferasse, die Kolonien meist neben elliptischer Hefe auch aus etwas längeren gestreckteren Zellen mit pastorianem Charakter, am meisten Ähnlichkeit mit den Bäumchen aus elliptischen und pastorianen Zellen der Hautvegetationen aufweisend. Es ist für uns keine Frage, daß dieser starken Vermehrung der Hefe nach der Gärung bei Luftzutritt, die nach unserer Schätzung bei verschiedenen Hefen in ihrer Mächtigkeit der während der Gärung entstandenen Bodensatzschicht gleichkommt oder letztere in manchen Fällen eher noch übertreffen mag, die Entstehung abnormer Mengen flüchtiger Säure zuzuschreiben ist. Wenn durch diese starke Entwicklung, mit der ein reger Stoffwechsel verbunden sein wird, der sich zwar infolge Abwesenheit von Zucker und in Gegenwart von Luft in etwas anderer Richtung abspielen muß, als während der anaeroben Gärung, bei Gegenwart von viel Zucker, die Beschaffenheit der Flüssigkeit stark in Mitleidenschaft gezogen werden muß, so verstehen wir dies.

Um über die Herkunft der flüchtigen Säure noch mehr Klarheit zu verschaffen und den Zeitpunkt der Bildung derselben noch genauer festzustellen, da wir ja bei den erwähnten Versuchen erst nach ca. 4 Monaten den Wein auf flüchtige Säure untersuchten und dazumal schon erhebliche Mengen feststellten, führten wir einen zweiten Versuch aus, ohne jetzt auf die Hautbildung unser Hauptaugenmerk zu richten. Wir verwendeten wieder sizil. Traubensaft von etwas anderer Zusammensetzung als bei dem soeben beschriebenen Versuch und füllten denselben wieder in 300 ccm Flaschen & 250 ccm Flüssigkeit. Als Hefen dienten diesmal nur Chardonnay 1, Steinberg 3, Neuenburg Pinot 2 und Siders Fendant 5, 2 Heferassen, die nur wenig flüchtige Säure zu erzeugen vermögen und zwei, die sich durch Bildung von viel flüchtiger Säure auszeichnen. Die Hefen wurden wieder zunächst vorgezüchtet und dann die einzelnen Flaschen am 12. April 1911 mit frisch gärender Hefe mittels einer Platinöse beschickt, je 6 Flaschen mit einer Heferasse, wovon je 3 mit Wattestopfen und Papierhaube resp. mit Gärver-

schließen mit Schwefelsäurefüllung verschlossen wurden. Dadurch konnte gleichzeitig das Verhalten der Hefen bei teilweisem Luftabschluß und so der Unterschied zwischen offener und geschlossener Gärung mit bezug auf Bildung flüchtiger Säure festgestellt werden. Sämtliche Flaschen standen während des Sommers in einem Schrank bei Zimmertemperatur.

Der unvergorene Traubensaft enthielt 162,24 pro Mille Invertzucker; 2,96 pro Mille Gesamtsäure als Weinsäure; 0,20 pro Mille flüchtige Säure als Essigsäure; 2,71 pro Mille nicht flüchtige Säure als Weinsäure und 199,60 pro Mille Extrakt. Die Flaschen, die mit Wattebausch wie die mit Gärverschlüssen versehenen, wurden von Zeit zu Zeit gewogen, um die Gärverläufe festzustellen, die, als CO_2 Verluste auf ein Liter ausgerechnet, in tabellarischer Form zusammengestellt sind. (Tabelle III.)

Tabelle III.

Verlust an CO_2 in g pro l	Neuenburg 2 (Pinot)						Siders 5 (Fendant)					
	Bei Luftabschluß			Bei Luftzutritt			Bei Luftabschluß			Bei Luftzutritt		
	Fl. No. 1	Fl. No. 2	Fl. No. 3	Fl. No. 4	Fl. No. 5	Fl. No. 6	Fl. No. 1	Fl. No. 2	Fl. No. 3	Fl. No. 4	Fl. No. 5	Fl. No. 6
bis zum:												
19. April	15,56	12,68	12,00	14,12	19,64	24,00	16,00	9,84	12,12	18,80	17,16	11,92
24. „	33,04	30,08	28,80	27,40	44,88	50,80	35,92	25,92	26,44	43,76	38,16	30,48
1. Mai	50,84	49,60	45,52	44,40	67,36	71,80	53,48	43,92	41,20	65,92	62,88	50,48
8. „	62,04	61,36	56,20	57,68	79,12	81,24	64,00	55,72	50,96	77,80	78,08	64,00
15. „	72,24	70,72	65,60	83,20	86,56	88,28	71,80	68,92	62,92	85,00	85,20	81,48
22. „	75,44	74,28	72,60	93,20	91,48	92,80	75,00	74,32	70,80	89,68	89,12	88,58
29. „	76,04	75,24	74,60				75,60	75,40	73,56			
6. Juni		75,56	75,80					76,00	75,00			
13. „								—	—			
29. „								76,12	75,88			
	Steinberg 3						Chardonnay 1					
	Fl. No. 1	Fl. No. 2	Fl. No. 3	Fl. No. 4	Fl. No. 5	Fl. No. 6	Fl. No. 1	Fl. No. 2	Fl. No. 3	Fl. No. 4	Fl. No. 5	Fl. No. 6
19. April	15,32	8,20	16,92	17,72	55,32	11,80	11,24	16,36	15,72	23,60	15,24	26,92
24. „	35,80	21,68	36,20	39,20	79,40	29,64	22,72	29,36	27,20	45,28	38,40	52,80
1. Mai	57,88	39,68	56,20	64,20	83,44	51,44	32,20	42,28	38,04	63,48	56,44	73,00
8. „	67,80	52,48	66,20	77,40	86,48	66,64	37,60	49,40	43,60	73,88	68,00	81,88
15. „	73,20	64,36	72,48	86,48	90,00	80,64	43,20	57,28	51,28	82,12	79,40	87,80
22. „	75,40	71,48	74,60	91,52	93,40	87,32	47,80	63,40	56,40	88,08	86,84	92,40
29. „	76,20	73,96	75,32				50,84	66,36	59,72			
6. Juni							54,40	69,48	64,00			
13. „							55,64	70,76	66,40			
29. „							57,00		68,20			

Die Gärung verlief bei den einzelnen Hefen in den verschiedenen Flaschen unter gleichen Verhältnissen nicht immer gleichmäßig. Im allgemeinen aber zeichnen sich Neuenburg Pinot, 2, Siders Fendant 5 und Steinberg 3, letztere bis zum 15. Mai an der Spitze, durch eine kräftige Gärung aus. In den mit Gärverschlüssen versehenen Flaschen äußert sich Chardonnay 1 als eine mittelmäßige Gärerin, die nicht imstande ist, den Traubensaft ganz zu vergären, auch nach längerer Zeit nicht, während die übrigen bis Ende Mai durchgegoren hatten. Daß der Luftzutritt die Gärung zu beschleunigen vermag, eine Frage, über die seinerzeit viel gestritten wurde, die jetzt aber so ziemlich entschieden ist, ergibt sich auch aus unseren Versuchen, wenn auch

die einzelnen Heferassen sich in dieser Richtung verschieden zeigen. Wenn wir noch den Verlust der Verdunstung, die bei den mit Wattebausch verschlossenen Flaschen stattfindet, nach einer gleichzeitig mit diesen letzteren aufgestellten und mit einer gärschwachen Hefe beschickten Flasche aber nicht sehr erheblich sein kann, berücksichtigen, so sind es bei Neuenburg 2, namentlich die Flaschen 5 und 6, bei Siders 5 die Flaschen 4 und 5, bei Steinberg 3 die Flaschen 4 und 5, bei Chardonnay 1 sämtliche Flaschen mit Watteverschluß, die besser gären als diejenigen mit Gärverschlüssen. Besonders vorteilhaft äußerte sich der Luftzutritt bei dieser letzteren Hefe, die unter diesen Verhältnissen den Traubensaft ebenso schnell vergor wie die übrigen. Alle Hefen, mit Einschluß von Chardonnay 1, hatten in den offenen Flaschen, bei der chemischen Analyse am 23. Mai schon fertig vergoren; vermutlich war die Gärung noch früher zu Ende.

Unter den mit Wattebausch verschlossenen Flaschen bildete sich bei Steinberg 3 schon bis zum 29. Mai auf der halben Oberfläche eine Haut, die sich bis zum 4. August auf die ganze Oberfläche auszudehnen vermochte, während die übrigen ohne Hautbildung verblieben und nur Neuenburg Pinot 2 und Siders Fendant 5 anfänglich, während einer kurzen Frist ziemlich starke Hefenringe bildeten. In den Flaschen mit Gärverschlüssen blieb die Hefenring- wie Hautbildung, wie zu erwarten stand, aus. Die Weine wurden nach vollendeter Gärung Ende Mai chemisch untersucht, eine 2. Serie Anfang August und die letzte Serie Anfang Oktober, um so die während der Lagerung stattgefundenen chemischen Veränderungen zu verfolgen. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in den verschiedenen Tabellen III—VI zusammengestellt; auf die wir hiemit verweisen.

Tabelle III.
Hefe Steinberg 3.

Untersucht am:	Gesamtsäure als Weinsäure g pro l	Flüchtige Säure als Essigsäure g pro l	Nicht flüchtige Säure als Weinsäure g pro l	Alkohol g pro l	Zucker g pro l	Extrakt g pro l
A. Bei Luftabschluß.						
30. Mai 1911						
Fl. No. 1	4,27	0,67	3,43	76,95	2,92	—
8. August 1911:						
Fl. No. 2	4,27	0,67	3,43	78,91	2,60	—
17. Oktober 1911:						
Fl. No. 3	3,22	0,64	2,42	79,88	2,16	22,79
B. Bei Luftzutritt.						
23. Mai 1911:						
Fl. No. 5	4,57	0,36	4,12	71,8	2,78	—
4. August 1911:						
Fl. No. 4	3,67	0,42	3,15	57,8	2,60	—
4. Oktober 1911:						
Fl. No. 6	2,55	0,31	2,17	50,10	3,50	21,00

Da, wo während der Gärung und Lagerung die Luft ungehinderten Zutritt hatte, also in den Flaschen mit Watteverschluß, liegen die Verhältnisse bezüglich der flüchtigen Säure wieder so ziemlich gleich wie in den früheren Versuchen. Es sind wieder dieselben Hefen mit viel und die nämlichen mit wenig flüchtiger Säure. Daß bei den ersteren nicht die hohe Grenze

Tabelle IV.
Hefe Chardonnay 1.

Untersucht am:	Gesamtsäure als Weinsäure g pro l	Flüchtige Säure als Essigsäure g pro l	Nicht flüchtige Säure als Weinsäure g pro l	Alkohol g pro l	Zucker g pro l	Extrakt g pro l
A. Bei Luftabschluß.						
14. Juni 1911: Fl. No. 2	4,53	0,48	3,93	71,97	10,20	—
8. August 1911: Fl. No. 3	4,42	0,60	3,67	70,18	16,10	—
17. Oktober 1911: Fl. No. 1	4,65	0,70	3,78	62,77	34,28	56,87
B. Bei Luftzutritt.						
23. Mai 1911: Fl. No. 6	4,50	0,47	3,91	74,3	2,88	—
4. August 1911: Fl. No. 4	4,57	0,42	4,05	64,7	2,50	—
4. Oktober 1911: Fl. No. 5	6,15	0,41	5,64	56,58	3,00	24,18

Tabelle V.
Hefe Neuenburg (Pinot) 2.

Untersucht am:	Gesamtsäure als Weinsäure g pro l	Flüchtige Säure als Essigsäure g pro l	Nicht flüchtige Säure als Weinsäure g pro l	Alkohol g pro l	Zucker g pro l	Extrakt g pro l
A. Bei Luftabschluß.						
30. Mai 1911: Fl. No. 1	4,27	0,66	3,45	76,42	2,78	—
8. August 1911: Fl. No. 3	4,12	0,56	3,42	77,02	2,46	—
17. Oktober 1911: Fl. No. 2	4,20	0,56	3,50	77,65	2,04	22,19
B. Bei Luftzutritt.						
23. Mai 1911: Fl. No. 6	4,42	0,64	3,62	72,6	2,78	—
4. August 1911: Fl. No. 4	4,05	0,67	3,21	62,70	2,32	—
4. Oktober 1911: Fl. No. 5	4,65	0,93	3,50	53,26	2,98	22,91
Sizil. Traubensaft, steril, unvergoren	2,96	0,20	2,71	—	162,24	199,60

wie früher erreicht wurde, mag mit der verschiedenen Zusammensetzung des Saftes zusammenhängen; vielleicht auch, daß dieselbe bei etwas längerem Zuwarten mit der Analyse doch noch erreicht worden wäre. Jetzt sehen wir auch deutlich, wie die Zunahme der flüchtigen Säure bei Neuenburg 2 und Siders 5 nicht nur während der Gärung sondern namentlich auch später noch kontinuierlich stattgefunden hat, während der Gehalt an flüchtiger Säure bei den beiden andern vom Abschluß der Gärung an sich ziemlich gleich blieb. Daß bei diesem individuellen Verhalten bezüglich der flüchtigen

Tabelle VI.
Hefe Siders (Fendant) 5.

Untersucht am:	Gesamtsäure als Weinsäure g pro l	Flüchtige Säure als Essigsäure g pro l	Nicht flüchtige Säure als Weinsäure g pro l	Alkohol g pro l	Zucker g pro l	Extrakt g pro l
A. Bei Luftabschluß.						
30. Mai 1911: Fl. No. 1	4,20	0,36	3,75	76,81	2,62	—
8. August 1911: Fl. No. 2	4,12	0,66	3,30	76,67	2,56	—
17. Oktober 1911: Fl. No. 3	4,12	0,60	3,37	77,23	2,08	21,75
B. Bei Luftzutritt.						
23. Mai 1911: Fl. No. 5	4,20	0,61	3,44	74,10	2,82	—
4. August 1911: Fl. No. 4	4,46	0,91	3,32	62,80	2,18	—
4. Oktober 1911: Fl. No. 6	4,95	1,26	3,38	57,48	2,56	21,96

Säure, eine einfache Oxydation des Alkohols durch den Sauerstoff der Luft, etwa nach der Formel $\text{CH}_3, \text{CH}_2, \text{OH} + 2 \text{O} = \text{CH}_3, \text{COOH} + \text{H}_2\text{O}$, wobei wir eine intermediäre Bildung von Acetaldehyd CH_3, CHO annehmen müßten, ohne weiteres Zutun der Hefe etwa mittels Oxydasenwirkung, im Spiel sei, ist wohl völlig ausgeschlossen, da ja sämtliche Hefen schon Ende Mai vergoren und also ursprünglich gleiche Mengen Alkohol erzeugt hatten, die sich dann allerdings infolge Verdunstung schnell veränderten. Doch besaßen z. B. die beiden Hefen Siders 5 und Chardonnay 1 vom Anfang bis zum Ende des Versuches ungefähr gleichviel Alkohol, weshalb unter Annahme eines einfachen Oxydationsvorganges ein ungleicher Gehalt an flüchtiger Säure am Ende des Versuches unverständlich wäre. Sollte der Alkohol aber doch das Ausgangsmaterial für die flüchtige Säure liefern, so müßte man einen ungleichen Einfluß auf denselben annehmen, man hätte es in diesem Fall dann wohl mit einer ungleichen Enzym- oder Oxydasenwirkung zu tun.

In der nicht flüchtigen Säure zeigt sich gegenüber den früheren Versuchen insofern ein abweichendes Verhalten, als bei Chardonnay 1 diese ganz bedeutend zunahm, während bei Steinberg 3 umgekehrt eine beträchtliche Abnahme sich einstellte, was in Übereinstimmung mit den während der Lagerung sich ungefähr gleich gebliebenen Mengen der nicht flüchtigen Säure der beiden anderen Hefen dafür spricht, daß eine Mitwirkung der nicht flüchtigen Säure bei der Bildung der flüchtigen Säure ebenfalls ausgeschlossen ist. Auch bei diesem Versuch müssen wir die Frage, ob die Kahlhäute nicht doch eine Rolle spielen, indem sie die flüchtige Säure vielleicht zu CO_2 und H_2O oxydieren und weil auch bei der Hefe Steinberg 3 mit der Kahlhaut nicht flüchtige Säure verschwunden ist, verneinen, denn erstens fand ein Säurerückgang bei Steinberg 3 auch bei den Weinen in den Flaschen statt, die mit Gärverschlüssen versehen waren und infolgedessen keine Häute aufwiesen. Zweitens fand auch bei Chardonnay 1, obwohl keine Haut an der Oberfläche entstanden, keine Zunahme an flüchtiger Säure statt.

Bei sämtlichen vergorenen Weinen blieb noch ein kleiner Zuckerrest

übrig. Ob dieser vielleicht bei der Bildung der flüchtigen Säure noch in Mitleidenschaft gezogen wurde? Buchner und Meisenheimer haben ja bei der Vergärung von Zucker durch Preßsaft aus Bierunterhefe u. a. auch Essigsäure nachgewiesen, obwohl das Wachstum lebender Bakterien ausgeschlossen war. Sie nehmen an, daß der Zucker durch ein besonderes Enzym, Glucacetase, in 3 Moleküle Essigsäure gespalten werde. Obwohl es uns noch sehr fraglich erscheint, daß es sich bei dem Zuckerrest, der in allen Flaschen während langer Zeit auffälligerweise sich ungefähr gleich geblieben, wirklich um Zucker und nicht um sonstige die Fehling'sche Lösung reduzierende Substanzen handelt, glauben wir hier doch nicht an eine Mitwirkung von Zucker bei der Entstehung der flüchtigen Säure. Bei Neuenburg 2 z. B. fanden wir in dem zuletzt untersuchten Wein noch mehr Zucker als in den beiden andern Flaschen, obwohl die flüchtige Säure zugenommen hat. Im fernern können wir uns auch nicht recht eine einseitige Spaltung von Zucker durch Glucacetase ohne gleichzeitige Einwirkung der Zymase denken; es müßte doch noch eine wenn auch schwache Vergärung des Zuckers stattfinden, was nach unsern Beobachtungen nicht der Fall ist.

Beim Vergleich derselben Hefen bei offener und geschlossener Gärung zeigt sich, daß Neuenburg 2 und Chardonnay 1 während der Gärung, sowohl in den offenen wie geschlossenen Flaschen, ungefähr gleich viel flüchtige Säure zu bilden vermochten, während Siders 5 in den Flaschen mit Gärverschlüssen unmittelbar nach der Gärung weniger flüchtige Säure als in den Flaschen mit Watteverschluß besaß, die dann nachträglich, wie bei Chardonnay 1, noch etwas zunahm. Umgekehrt hatte Steinberg 3 bei der Gärung unter teilweisem Luftabschluß mehr flüchtige Säure gebildet als bei Watteverschluß. Jedenfalls finden wir in den geschlossenen Flaschen nirgends die Mengen flüchtiger Säure, wie sie Siders 5 und Neuenburg 2 bei der Gärung und Lagerung unter Luftzutritt gebildet haben. Und da nun in den Flaschen mit Luftzutritt nach der Gärung die Neubildungen der Hefe auf der Bodensatzschicht auftreten, so müssen wir wohl die Bildung abnormer Mengen flüchtiger Säure damit in Zusammenhang bringen, um so eher, als die Bildung flüchtiger Säure nach der Gärung mit der Neubildung der Hefe zeitlich zusammenfällt. Es muß ein reger Stoffwechsel in diesen sprossenden jungen Hefezellen eintreten, im Verlauf dessen beim Abbau komplizierter Verbindungen, die wir vorderhand nicht namhaft zu machen vermögen, wohl flüchtige Säure erzeugt wird. Daß diese letztere nicht bei allen Neubildungen sondern nur bei gewissen Heferassen entsteht, muß dafür sprechen, daß Auf- und Abbau von Verbindungen beim Stoffwechsel der Hefe bei den einzelnen Rassen und Arten verschieden verlaufen.

Duclaux¹⁾ schreibt über die Entstehung der Essigsäure bei der alkoholischen Gärung:

„J'ai montré que cet acide acétique, et les traces d'acides homologues qui l'accompagnent d'ordinaire, sont de véritables produits d'excrétion de la levure. Il s'en produit, en effet, dans la levure abandonnée à elle même, sans l'intervention d'aucun aliment sucré ... La levure privée du sucre ne meurt pas de suite. La vie des cellules se continue pendant un temps plus ou moins long, aux dépens des matériaux du globule lui même. C'est précisément pendant ces mutations intracellulaires des tissus que l'acide acétique se forme et les quantités produites sont assez exactement en rapport

¹⁾ Duclaux, Traité de microbiologie. T. III. 1900. p. 415.

avec l'activité de la vie dans ces conditions. Lorsque la quantité de levure est exagérée vis à vis de celle du sucre, la disparition du sucre devient très rapide; et, au moment où elle est complète, les globules amorcés pour ainsi dire à une vie active, la continuent longtemps après que le sucre a disparu et ne la laissent s'éteindre que peu à peu. On constate alors que la quantité d'acide acétique formé, faible pendant qu'il y a du sucre, s'accroît beaucoup à partir du moment où la fermentation proprement dite a cessé, et où ont commencé les mutations intracellulaires qui lui succèdent. Dans une expérience où j'avais mis à fermenter 200 grammes de sucre avec 1 kilogramme de levure, j'ai trouvé 1 gr. 20 d'acide acétique dans la levure initiale, 1 gr. 30 après la disparition complète du sucre, 2 gr. 10 dans le liquide abandonné à lui même pendant 2 jours, pendant lesquels il s'était dégagé constamment de l'acide carbonique."

Daß auf diesem Wege die flüchtige Säure nach der Gärung entstanden ist, ist wohl kaum anzunehmen; wir könnten dann nicht verstehen, daß die gleichen Hefen in der geschlossenen Flasche und bei offener Gärung sich verschieden verhielten. Das erwähnte Verhalten ist nach *D u c l a u x* eine allgemein vorkommende Eigenschaft der Hefen; daß sich nun morphologisch nahe verwandte Heferassen wie Steinberg 3 und Siders 5 diesbezüglich so sehr unterscheiden sollten, ist wohl ausgeschlossen.

*R e i s c h*¹⁾ prüfte auch die Frage, ob der Prozeß der Essigsäurebildung im allgemeinen an die Lebenserscheinungen der Hefe geknüpft sei oder speziell nur an jene Form, die als Gärung bezeichnet wird. Er hatte zu diesem Zwecke die Essigsäure bestimmt, die in einer Flüssigkeit produziert wurde, in welcher sich die Hefe vermehrte, ohne Gärung hervorzurufen, in einer Lösung, die neben den nötigen Mineralstoffen und Pepton Milchsucker, ein für die angewendete Hefeart nicht vergärbare Kohlehydrat, enthielt. Bei einer zwar nur langsamen aber deutlichen Vermehrung der Hefe konnte er so gut wie gar keine Zunahme an flüchtiger Säure konstatieren, weshalb er zu dem Schluß kam, daß die Essigsäure nicht unter allen Umständen von einer in Vermehrung und Wachstum begriffenen Hefe gebildet werde, sondern nur von einer solchen, welche sich gleichzeitig in Gärtätigkeit befinde. Daß dem nicht so ist, glauben wir durch die Mitteilung unserer Beobachtungen bewiesen zu haben.

Noch einer anderen Beobachtung von *R e i s c h* möchten wir bei dieser Gelegenheit Erwähnung tun. Bei seinen Untersuchungen hatte der genannte Forscher drei Heferassen verwendet, eine Gumpoldskirchner, eine Tokayer und eine Piesporter und dabei die Wahrnehmung gemacht, daß unter den drei erwähnten Heferassen diejenige, welche die meiste Essigsäure bildete, die Gumpoldskirchner, auch die gärkräftigste war. Unter unsern Hefen müssen wir Steinberg 3 und Siders 5 hinsichtlich Gärkraft als ziemlich ebenbürtig bezeichnen; eher verdiente Steinberg 3 auf Grund früherer Versuche noch den Vorzug vor den übrigen, während Chardonnay 1 mehr die Note mittelmäßig verdient. Man wird nun an Hand unserer Resultate, namentlich derjenigen des letzten Versuches kaum einen Zusammenhang zwischen Bildung von flüchtiger Säure kurz nach der Gärung bei Luftabschluß und Gärkraft herausfinden können, noch weniger aber einen solchen unmittelbar nach der Gärung bei Luftzutritt und erst recht nicht längere Zeit nach der Gärung bei Luftzutritt.

¹⁾ *R e i s c h*, loc. cit.

Welche Grenzen die Bildung flüchtiger Säure bei Luftzutritt erreichen kann, vermögen unsere noch zu wenig umfassenden Untersuchungen nicht zu entscheiden. Im Theilersbirnwein mögen unsere Hefen dieselbe bei 1,7 ‰ und im Traubenwein bei 1,8 ‰ ungefähr erreicht haben, denn die Produktion der flüchtigen Säure hatte vom 25. Februar bis zum 1. April bei denjenigen Hefen, die am meisten zu bilden vermochten, so zu sagen ganz aufgehört.

Ob man mit einer derartigen Bildung von flüchtiger Säure auch in der Kellereipraxis zu rechnen hat? Wir halten es nicht für ausgeschlossen. Bei uns in der Schweiz hängt man mancherorts noch mit unverbrüchlicher Treue an der Gewohnheit, die Obstweine nach der Gärung nicht vom Trub abzu ziehen. Sind nun die Fässer nicht etwa spundvoll oder gut verschlagen, so wäre ja wohl denkbar, daß durch reichlichen Luftzutritt die Hefen im Bodensatz zu erneutem Wachstum und dadurch zur Bildung von flüchtiger Säure angeregt würden. Bei den milden Theilersbirn- und Wasserbirnweinen z. B., wo ohnehin reichliche Mengen flüchtiger Säure durch die zahlreich auftretenden Milchsäurebakterien erzeugt werden, wird der genannte Vorgang nicht mehr von großer Bedeutung und weniger spürbar sein; in gerbstoff- oder säurereichen Obstweinen dagegen, wo man weniger mit Bakterien zu rechnen hat, könnten in solchen Fällen sich doch abnorme Mengen flüchtiger Säure bemerkbar machen, vorausgesetzt, daß Kahlhefen, die in solchen Fällen ja gern auftreten, den Vorgang nicht wieder stören.

Herrn Haller an der Versuchsanstalt, der mir im Verlaufe der Untersuchung mannigfache schätzenswerte Dienste leistete, möchte ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Nach der Gärung der Reinhefe bei Luftzutritt beginnt auf und in dem Bodensatz e erneutes Wachstum der Hefe, wobei flockige oder glatte Schichten neuer Hefe auf dem Bodensatz oder neben demselben sich bilden.

2. Unter den gleichen Umständen können im Verlauf von zirka 4—5 Monaten bei Zimmertemperatur in kleineren Gefäßen in Obst- oder Traubenwein bis zirka 1,8 ‰ flüchtige Säure (als Essigsäure berechnet) gebildet werden.

3. Ein kleiner Teil der flüchtigen Säure entsteht während der Gärung, der größere nach derselben.

4. Die Bildung der flüchtigen Säure nach der Gärung rührt nicht etwa von einer einfachen Oxydation des Alkohols her, sondern hängt von der Heferasse ab, wobei die Möglichkeit nicht ausgeschlossen bleibt, daß einzelne Heferassen den Alkohol mittels Oxydasen zu flüchtiger Säure zu oxydieren vermögen.

5. Die genannte Erscheinung hängt auch nicht mit der Haut- oder Hefenringbildung zusammen.

6. Sehr wahrscheinlich spielt auch der nach der Gärung der Obst- und Traubenweine verbleibende

Zuckerrest (sofern es sich überhaupt um solchen und nicht nur um sonstige die Fehlingsche Lösung reduzierende Substanzen handelt) hierbei keine Rolle.

7. Da die Bildung der flüchtigen Säure nach der Gärung mit der Bildung neuer Hefe auf dem Bodensatz zeitlich zusammenfällt, so müssen wir in diesen nach der Gärung entstandenen neuen Hefebildungen auf dem Bodensatz die Ursache der genannten Erscheinung suchen.

8. Wahrscheinlich wird die flüchtige Säure nach der Gärung als Abbauprodukt beim Stoffwechsel der sich neu bildenden Hefe erzeugt.

9. Ein Abbau von nicht flüchtiger Säure kann hierbei nicht in Betracht fallen.

Wädenswil, den 23. November 1911.

Nachdruck verboten.

Die Mobilisierung der Phosphorsäure des Bodens unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit der Bakterien.

Zweite Mitteilung.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserl. russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von S. A. Sewerin in Moskau.

Als Ergänzung zu den Versuchen, welche bereits früher in unserer ersten diesbezüglichen Abhandlung¹⁾ veröffentlicht worden sind, wollen wir zunächst 2 analoge Versuche mit vollständig gleicher Anordnung, wie jene, mitteilen. Ein Unterschied bestand bloß darin, daß die Böden bei diesen beiden Versuchen absolut keinen Phosphorzusatz erhielten, denn wir bezweckten, mit diesen Versuchen aufzuklären, welchen Einfluß das Bakterienleben des Bodens, sämtliche in demselben enthaltene Bakterienarten in Gemeinschaft, ausschließlich auf die durch keinen Phosphorzusatz maskierten Phosphorverbindungen des Bodens selbst ausübt. Zudem war bei diesen Versuchen das Leben des Bodens besser beleuchtet, denn, abgesehen von Bestimmungen der Ausscheidung von CO_2 , NH_3 und des Gehaltes an leichtlöslicher Phosphorsäure, wurden noch der Wassergehalt, die Nitrate, der Gesamtstickstoff und die Bakterienzahl bestimmt. Ferner wurden in dem zweiten der hier geschilderten Versuche alle diese Bestimmungen parallel, an einem sterilen und einem nicht sterilen Boden, ausgeführt, um einigermaßen den Einfluß der Sterilisation des Bodens auf das mikrobiologische Leben desselben abzuschätzen. Zu dem ersten Versuche wurden 3 Portionen genommen, je 1100 g Schwarzerde, und zwar die nämliche, welche bei den in voriger Abhandlung (Tab. IV) beschriebenen Versuchen 7 und 8 benutzt worden war; jede Portion erhielt je 500 ccm Wasserzusatz, alle 3 Portionen wurden gleichzeitig in einem Auto-

¹⁾ Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. 28. Nr. 22/24.

klaven bei 2 Atmosphären durch eine Stunde sterilisiert. Nach erfolgter Sterilisierung wurde eine Portion zur Bestimmung des Wassergehaltes, des Gesamtstickstoffes, der Nitrate und P_2O_5 aus dem Kolben herausgenommen, die beiden anderen wurden in den Apparat gebracht. Die Durchlüftung der Apparate begann am 23. Februar 1910, wobei die ersten 10 Tage hindurch beide Portionen steril blieben, um sich an den ausgeatmeten CO_2 -Mengen von der Sterilität der Versuchsportionen überzeugen zu können. Da diese Mengen tatsächlich den Ergebnissen des sterilen Bodens in den vorigen Versuchen entsprachen, so wurde deswegen am 5. März in einem Apparate der Boden mit 2 ccm eines Wasserausguges aus einem Gemisch von 2 Böden geimpft, und zwar aus der für den Versuch benutzten Schwarzerde und aus dem Boden eines Vegetationsgefäßes; in dem anderen Apparate wurde der Boden steril belassen. Die Mengen der ausgeschiedenen CO_2 sind in nachstehender Tabelle, welche wir im Anschluß an die früher publizierten Versuche mit Nr. 5 und die Versuche selbst mit den Nummern 9 und 10 bezeichnen wollen, verzeichnet. Sämtliche Berechnungen und Gegenüberstellungen der produzierten CO_2 -Mengen für den geimpften Boden begannen wir am 5. März; für diesen Boden wird, angesichts seiner größeren Ziffern, die Ignorierung der etwas gesteigerten CO_2 -Mengen in den ersten 10 Tagen, wo er noch steril war (in den ersten 5 Tagen wurden 0,107 g CO_2 , in den anderen 5 Tagen 0,051 g ausgeschieden) keine große Fehlerquelle sein. Für den sterilen Boden dagegen rechnen wir vom 23. Februar an, weil hier während der ersten Zeit, wo das Maximum von CO_2 ausgeschieden wird, diese Menge eine merkliche Rolle in der Gesamtmenge der ausgeschiedenen CO_2 spielt. Der Versuch dauerte 60 Tage. Nach Schluß des Versuches war die Struktur bei beiden Böden eine gute, krümelige, doch ist dieselbe bei dem sterilen Boden weniger gut, grobkörniger; nach Geruch sind sie recht verschieden, und zwar hat der geimpfte Boden den spezifischen Geruch feuchter Erde, während der sterile

V.

Datum der Gewichtsbestimmung	9. Versuch steriler Boden	10. Versuch mit dem Auszug geimpfter Boden
	Menge der ausgeschiedenen CO_2 in Grammen	
28. Februar	0,108	—
5. März	0,0456	—
10. „	0,0462	2,007
15. „	0,033	2,685
20. „	0,032	1,042
25. „	0,016	0,646
30. „	—, —	0,656
4. April	—, —	0,600
Insgesamt in 30 Tagen	0,2808	7,636
30. März	0,031	—
4. April	0,020	—
9. „	0,017	0,556
14. „	0,015	0,496
19. „	0,031	0,509
24. „	0,023	0,587
29. „	—, —	0,556
4. Mai	—, —	0,514
Insgesamt in 30 Tagen	0,1370	3,218
„ „ 60 „	0,4178	10,854
		32*

einen angenehmen, aromatischen Geruch aufweist, der wenig an Erdgeruch erinnert. Die Reaktion ist bei beiden neutral, die Reaktion auf HNO_3 war negativ, die Feuchtigkeit war die gleiche, und zwar wies der sterile Boden 33,9 Proz., der geimpfte 33,6 Proz. Feuchtigkeit auf. Eine bakteriologische Analyse erwies die vollständige Abwesenheit von Keimen in dem sterilem Boden und eine unermeßliche Menge in dem geimpften; Nähragar-Platten ergaben in der untersten Schicht des Bodens, am Boden des Kolbens, 30 045 500 Keime pro 1 g, in der oberen Schicht 46 588 000, auf Gelatine unten 16 376 000, oben 16 528 000 pro 1 g Boden mit oben genannter Feuchtigkeit. Die Resultate sind das Mittel von 2 Platten, die Verdünnungen waren $\frac{1}{1000}$ und $\frac{1}{10000}$.

Im Verlaufe des Versuches hat der sterile Boden 0,4178 g, der geimpfte 10,854 g CO_2 ausgeatmet, mit anderen Worten, im geimpften wurde ungefähr das 25-fache ausgeschieden gegenüber dem sterilen. Für den sterilen Boden ist die erhaltene Ziffer eine mittlere im Vergleich zu den analogen Ziffern der vorangegangenen Versuche, für den sterilen eine maximale; das Verhältnis von 1:25 als Endresultat erweist sich als weitest im Vergleich zu den früher erhaltenen. Der Ausscheidungsgang von CO_2 war bei dem sterilen Boden der gewöhnliche, das Maximum in den ersten 5 Tagen, und eine mehr oder weniger konsequente Abnahme in den folgenden Tagen; innerhalb des zweiten Monats wurde die Hälfte von dem im ersten ausgeschieden, das Verhältnis zwischen der Maximal- und Minimalziffer von CO_2 war 1:7, d. h. etwa dasselbe, wie in den vorigen Versuchen. Bei dem geimpften Boden fiel das Maximum der CO_2 -Ausscheidung auf die zweiten 5 Tage, worauf eine konsequente Abnahme folgt; innerhalb des zweiten Monats wurde CO_2 mehr als das zweifache weniger ausgeatmet, als innerhalb des ersten, das Verhältnis zwischen Maximum und Minimum war 1:5, wiederum dieselben Verhältnisse, wie bei den vorigen Versuchen. Das Verhältnis der Maximalziffern von CO_2 in dem sterilen und geimpften Boden war 1:24, der Minimalziffern 1:33, d. h. die weiteste von allen Versuchen, ebenso ist das Verhältnis der CO_2 -Ziffern in den letzten 5 Versuchstagen zwischen dem sterilen und geimpften Boden außerordentlich hoch, und zwar 1:22; mit anderen Worten das biologische Leben des Bodens war zu Ende des Versuches noch sehr intensiv. Das Resultat dieses Versuches nähert sich am meisten den Ergebnissen der in voriger Arbeit beschriebenen Versuche 7 und 8.

Eine Ammoniakausscheidung fand aus den Böden nicht statt. Eine Bestimmung der Nitrate im Boden ergab im sterilen Boden vor dem Versuch 7,8 mg N_2O_5 pro 100 g absolut trocknen Bodens, im sterilen nach Schluß des Versuches 6,2 mg, im geimpften 23,9; demnach verlief der Nitrifikationsprozeß im geimpften Boden mit Vergrößerung des Nitratgehaltes mehr als um das dreifache. Im Vergleich zu dem Versuch 8 verlief das biologische Leben des Bodens weniger günstig für die Anreicherung von Bodennitraten. Wir erinnern daran, daß in dem Versuche 8 in dem geimpften Boden mehr als die fünffache Nitratmenge sich ergab, als in dem sterilen, die absolute Menge war 53,5 mg, letztere ist mehr als um das doppelte größer, als in dem geimpften Boden des letzten Versuches.

Was den Gesamtstickstoff anbetrifft, so war das Resultat folgendes: Die N-Bestimmung wurde nach der Kjeldahl-Jodlbauerschen Methode ausgeführt; von jedem Versuchsboden wurden je 3 Gewichtsmengen von je 6—7 g entnommen; vorher wurde der Boden lufttrocken gemacht, durch ein feines Sieb durchgetrieben, sorgfältig durchgemischt, die Pflanzen-

reste aber, mit Ausnahme größerer Stückchen, wurden aus den Gewichtsmengen nicht entfernt. Letzterer Umstand trug die Schuld daran, daß die Schwankungen der Stickstoffziffern in den Gewichtsmengen ein und desselben Bodens sich als sehr bedeutende erwiesen. Für den sterilen und sofort einer Analyse unterzogenen Boden waren die Ziffern 0,4679, 0,4693 und 0,4054 Proz. N, oder durchschnittlich 0,4475; für denselben sterilen Boden nach dem Versuch 0,3727, 0,4539 und 0,4547 Proz. N, das Mittel 0,4271; für den geimpften Boden nach dem Versuch 0,4631, 0,4073, 0,3585 Proz. N, das Mittel 0,4096. Urteilt man nach diesen Mittelzahlen, so verloren die Böden konsequent einen Teil ihres Gesamtstickstoffes, da jedoch die Schwankungen in den N-Bestimmungen für die Gewichtsmengen ein und desselben Bodens bedeutend größer sind, als die Differenz der Mittelzahlen jeder 2 zu vergleichenden Böden, so kann auch die Schlußfolgerung über einen N-Verlust eine rein zufällige und den Tatsachen nicht entsprechende sein. Hinsichtlich der Produktion von leichtlöslicher Phosphorsäure im Boden sind die Ergebnisse der chemischen Analyse folgende: Im sterilen Boden gab es vor dem Versuch 0,0076 Proz. in 2 proz. Essigsäure löslicher Phosphorsäure, im sterilen nach dem Versuche 0,0090 Proz. und in dem sterilisierten, geimpften nach dem Versuche 0,0072 Proz., d. h. im sterilen Boden ist im Verlaufe des Versuches die lösliche Phosphorsäuremenge um 18,4 Proz. gestiegen, im geimpften dagegen um 5,2 Proz. gefallen.

Der zweite Versuch wurde mit demselben Schwarzerdeboden aus dem Landgut des Herrn L e w i t z k y angestellt, aber die Erde stammte aus einer neuen Sendung vom September 1910, wie zuvor aus dem zweiten Felde in der Nähe des Herrenhauses, aus einer Tiefe von 8—14 cm. Vor Beginn des Versuches wurde der Boden in einem Quantum von 6 K. durchgeseiht, an der Luft getrocknet, danach wurden 5 Portionen in 5 Kolben zu je 1100 g abgewogen. Der Feuchtigkeitsgehalt des Bodens betrug 6,31 Proz. Sämtliche Portionen erhielten einen Wasserzusatz von je 500 ccm; 3 Portionen wurden gleichzeitig in einem Autoklaven, wie stets, durch eine Stunde bei 2 Atmosphären sterilisiert, die 2 übrigen wurden nicht sterilisiert. Hierauf wurde eine sterilisierte und eine nicht sterile Portion aus dem Kolben herausgenommen und an der Luft zum Trocknen ausgestellt, um später einer chemischen Analyse unterzogen zu werden, die übrigen 3, — eine nicht sterile, die beiden anderen sterilen wurden in die Apparate gebracht. Eine chemische Analyse der ersten 2 (Böden vor dem Versuch) ergab folgendes: Der sterile Boden hatte nach Entfernung aus dem Kolben nach Augenmaß einen mäßigen Feuchtigkeitsgehalt und eine gute, feinkrümelige Struktur, der nicht sterile Boden hatte, trotz des nämlichen Wasserzusatzes von 500 ccm, ein merklich feuchteres Aussehen, schmierte, und hatte darum gar keine Struktur; die Reaktion war beim sterilen Boden neutral, aber kaum merklich alkalisch, bei dem nicht sterilen war die Alkaleszenz scheinbar stärker, als beim ersteren. Die Menge von N_2O_5 auf 100 g absolut trockenen Bodens war im sterilen 48,3 mg, im nicht sterilen 46,6 mg; der Gesamtstickstoff im sterilen 0,4315 Proz., im nicht sterilen 0,4156 Proz., die Menge in 2 proz. Essigsäure löslicher P_2O_5 im sterilen 0,0056 Proz., im nicht sterilen 0,0014 Proz. Eine bakteriologische Analyse wurde an dem Boden ausgeführt, als er noch trocken war, vor Abwägung der Portionen; es wurden 2 Gewichtsmengen zu je 1 g genommen, Verflüssigungen zu $\frac{1}{1000}$ und $\frac{1}{10000}$. Außer Nähragar und Nährgelatine wurden noch Aussaaten vorgenommen auf Agar aus einem Bohnendekokt (mit Zusatz von Rohrzucker) und auf Mannitagar (letzteres wurde nach dem für Ausscheidung

der Azotobakterien üblichen Rezept zubereitet). Das Resultat war folgendes: Auf 1 g Boden mit 6,31 Proz. Feuchtigkeitsgehalt kamen auf Nähragar 1,590 000 Keime, auf Nährgelatine 2,306 750, auf Bohnenagar 3 100 000, auf Mannitagar gab es bloß 13 Schimmelpilzkolonien (bei $\frac{1}{10000}$ Verflüssigung) oder 130 000 (?) pro 1 g. Die Ziffern sind das Mittel aus einigen Platten.

Die übrigen Böden kamen, wie gesagt, in den Apparat, wobei bei derjenigen Portion, welche im Verlaufe des ganzen Versuches steril blieb, der Ausscheidungsgang von CO_2 nicht verfolgt wurde, weil ich nach sämtlichen vorangegangenen Versuchen über die Dimension und den Charakter dieses Prozesses im sterilen Boden genügend unterrichtet war. Indessen behufs Gleichheit der Bedingungen wurde über diesem Boden auch während der ganzen Zeit ein vorher durch Kolben mit NaHO , H_2SO_4 und H_2O durchgeleiteter Luftstrom durchgetrieben, und die Temperatur des Bodens die ganze Zeit hindurch auf 30°C gehalten. Die andere Portion sterilen Bodens wurde mit je einem Kubikzentimeter von Bodenauszügen aus dem Versuchsboden, aus dem Boden eines Vegetationsgefäßes und aus dem Mergelboden des Moskauer Agronomischen Institutes geimpft. Außerdem erhielt der Versuchsboden noch je 1 cem einer Reinkultur von *B. radicicola* und *Azotobacter*; *B. radicicola* war frisch ausgeschieden aus Klee- knöllchen, hierauf in 100 g sterilen Schwarzerdbodens eingeimpft und hieraus nach 5 Tagen von neuem in Reinkultur ausgeschieden, und erst nach dieser Durchführung durch den Boden wurde die Versuchsportion mit einer Kultur dieses Mikroben geimpft. *Azotobacter* (offenbar *chroococcum* — eine genauere Bestimmung wurde nicht vorgenommen), welches im Laboratorium vorrätig war, wurde ebenfalls vorher in eine kleine, sterile Bodenportion eingeimpft, nach 15 Tagen hieraus in Reinkultur ausgeschieden und alsdann erst mit dieser, durch einen Boden durchgeführten Kultur die Versuchsportion geimpft. Der nicht sterile Boden erhielt behufs Gleichheit der Bedingungen dieselben Auszüge von 3 Böden und die 2 Reinkulturen. Die Apparate wurden am 2. Oktober 1910 in Gang gebracht, der Versuch dauerte 60 Tage. Der Ausscheidungsgang von CO_2 in dem sterilen, geimpften und in dem nicht sterilen, auch geimpften Boden war folgender:

VI.

Datum der Gewichtsbestimmung	Versuch 11 steriler u. geimpfter	Versuch 12 nicht steriler und geimpfter
	Menge der ausgeschiedenen CO_2 in Grammen	
7. Oktober	3,172	0,986
12. „	1,066	0,495
17. „	0,762	0,405
22. „	0,657	0,359
27. „	0,765	0,391
1. November	0,820	0,326
Insgesamt in 30 Tagen	7,252	2,962
5. November	0,770	0,230
10. „	0,456	0,379
15. „	0,418	0,221
20. „	0,409	0,206
25. „	0,338	0,358
30. „	0,307	0,284
Insgesamt in 30 Tagen	2,798	1,678
„ „ 60 „	10,050	4,640

Nach Verlauf von 60 Tagen wurden alle 3 Apparate auseinander genommen und die Böden aus den Kolben zum Trocknen bei Zimmerwärme herausgeholt. Der Feuchtigkeitsgehalt des sterilisierten und nicht geimpften Bodens erwies sich als 33,9 Proz., des sterilen und geimpften als 34,7 Proz. und des nicht sterilisierten als 35,8 Proz., d. h. ungefähr der gleiche. Demnach hat weder der mikrobiologische Prozeß, noch die Sterilisierung an und für sich irgend einen merklichen Einfluß auf den Feuchtigkeitsgehalt des Bodens ausgeübt. Die beste, feinkrümelige Struktur hatte der sterilisierte, geimpfte Boden; in dem Boden, welcher die ganze Zeit steril blieb, ist eine gute, krümelige Struktur an der Oberfläche, wo der Boden trockner erscheint, zu bemerken, tiefer dagegen, wo der Boden nach Augenmaß feuchter erscheint, ist die Struktur bereits schlechter, beim Schütteln des Kolbens ballt sich der Boden zu Schollen zusammen; am schlechtesten ist die Struktur bei dem nicht sterilisierten Boden; nach Augenmaß ist die Erde hier feuchter, als bei den ersteren, beim Herausnehmen aus dem Kolben schmiert sie. Somit stand eine bessere Struktur des Bodens augenscheinlich in Verbindung mit geringerer Feuchtigkeit desselben, doch tritt dieses aus obigen Zifferdaten des Feuchtigkeitsgehaltes der Böden nicht genügend zu Tage. Über den Einfluß des mikrobiologischen Prozesses oder vollständiger Abwesenheit desselben auf die Struktur der Versuchsportionen der Böden kann ich kaum was aussagen, weil ich die ganze Zeit darauf nicht genügend geachtet habe und in den früheren Versuchen keine Bestimmungen des Feuchtigkeitsgrades gemacht habe, jedoch dem Gesamteindruck zufolge erweist dieser Faktor auch bei den Bedingungen unserer Anordnung der Versuche einen positiven Einfluß. Die Lösung dieser Frage bedarf natürlich einer speziellen Untersuchung und einer besonderen Anordnung der Versuche. Der Geruch der sterilen Erde ist, wie stets, ein aparter, nicht erdiger, angenehmer, eher an gebackenes Schwarzbrot erinnernd; bei dem sterilisierten und geimpften ist am meisten der gewöhnliche Geruch feuchter Erde (ein Pilzgeruch macht sich bemerkbar) ausgeprägt; die nicht sterilisierte Erde hat einen sehr schwachen Geruch, so daß er sich schwer charakterisieren läßt, doch ist ein schwacher Schimmelgeruch wahrzunehmen; die Reaktion ist bei ersterer neutral, bei der zweiten ebenfalls, vielleicht mit sehr geringer Neigung zur Alkaleszenz, bei der nicht sterilen mit gleicher Neigung zur Acidität.

Zur bakteriologischen Analyse wurden sofort nach Öffnung der Kolben aus jedem Boden je 2 Gewichtsportionen entnommen zu je 1 g, Verflüssigungen wurden zu $\frac{1}{1000}$ und $\frac{1}{10000}$ gemacht; Aussaaten auf Nähragar, Nährgelatine, Bohnen- und Glukoseagar (anstatt Mannitagar); demnach kamen auf jedes Nährmedium je 4 Aussaatplatten. Das Resultat der Analysen war folgendes:

	Nichtsterilisierter geimpfter Boden	Sterilisierter geimpfter Boden
Nähragar	3,278 900	22,802 950
Nährgelatine	5,811 000	22,802 200
Bohnenagar	3,733 000	21,786 000
Glukoseagar	5,784 750	26,669 250

Vorliegende Ziffern, das Mittel aus 4 Platten, geben die Keimzahl pro 1 g Boden mit einem Feuchtigkeitsgehalt von 35,8 Proz. bei dem nicht sterilisierten und von 34,7 Proz. bei dem sterilisierten Boden an. Somit war in dem nicht sterilisierten Boden nach Schluß des Versuches die Bakterienflora absolut sowohl als auch relativ (im Verhältnis zur Trockensubstanz) zahl-

reicher, als in demselben Boden vor Beginn des Versuches. Selbstverständlich läßt sich diese Zunahme nicht auf Rechnung jener Keimzahl, welche mit dem Wasser und den Impfungen eingeführt wurde, bringen, denn letztere wird, bei einer Berechnung, gegenüber dem im Boden bereits vorhandenen, sich als minimal erweisen. Vergleicht man nun den nicht sterilisierten mit dem sterilisierten, geimpften Boden, so erweist sich in letzterem die Bakterienflora um 4—7mal größer als in dem nicht sterilisierten. Die Tatsache einer besseren Entwicklung der Bakterien im sterilisierten Boden wurde bereits früher von anderen Forschern konstatiert.

Neben der Gesamtzahl der Keime interessierte uns noch die unmittelbare Auffindung von Kolonien des *B. rad ic ic o la* und *A z o t o b a c t e r* auf den Platten, um so mehr, als diese Kulturen künstlich in die Böden eingeführt worden waren. Wenn es auf diese Weise nicht gelingt, dieselben aus den natürlichen Böden zu isolieren, so wird es vielleicht möglich sein, sie im sterilisierten Boden, unter den Bedingungen unserer Versuche, aufzufinden, um so mehr, als wir hinsichtlich des *B. rad ic ic o la* durch Vorversuche konstatiert haben, daß dieser Mikroorganismus in steriler Schwarzerde in Reinkultur rapid und in immenser Zahl sich entwickelt. Zu diesem Zwecke haben wir in unsere Analyse Bohnen- und Glukoseagar zur Auffindung des *B. rad ic ic o la* und *A z o t o b a c t e r* eingeführt, doch ungeachtet aller Exaktheit, mit welcher sämtliche Platten untersucht wurden, haben wir nirgends irgendeine Kolonie dieser Bakterien auffinden können. Hier und da waren in geringer Anzahl auf den Platten ähnliche Kolonien, wie beim *B. rad ic ic o la* zu sehen; wir impften sie ab, aber bei weiterem Studium wurde es klar, daß dieselben mit dem *B. rad ic ic o la* nichts gemeinsames haben; dasselbe gilt auch für *A z o t o b a c t e r*. Auf Grund dieser Angaben kann man annehmen, daß diese Kulturen sich überhaupt weder im nicht sterilisierten, noch im sterilisierten Boden entwickelt haben, oder daß ihre Entwicklung dort eine minimale war. Von anderen vorübergehend beim Studium der Aussaatplatten verzeichneten Besonderheiten ist für den nicht sterilisierten Boden eine große Kolonienzahl von *B. m y c o i d e s* auf Nähragar und Nährgelatine, auf Bohnen- und Glukoseagar eine sehr große Anzahl von Schimmelpilzkolonien hervorzuheben; diese bildeten die Hälfte der Bakterienkolonien, vielleicht auch mehr.

Auf den Platten aus dem sterilisierten, geimpften Boden sprang die Gegenwart von Kolonien des *B. m y c o i d e s* nicht in die Augen, während Schimmelpilzkolonien entweder gar nicht vorhanden oder ihrer sehr wenige waren. An der Oberfläche der Böden waren während des Versuches Schimmelpilze mit bloßem Auge nicht wahrzunehmen. Was den sterilisierten Boden anbetrifft, welcher ungeimpft blieb im Verlaufe des ganzen Versuches, so hat die bakteriologische Analyse seine volle Sterilität bestätigt.

Ich gehe nun zu einer Erörterung der Ausscheidungsziffern von CO_2 über. Der sterilisierte, geimpfte Boden hat innerhalb 60 Tagen die nämlichen 10,0 g CO_2 , wie im vorigen Versuch, ausgeatmet; das Maximum der Ausscheidung fiel auf die ersten 5 Tage, nicht auf die zweiten, wie bei dem vorangegangenen Versuche; doch hatten wir dasselbe Beispiel bereits früher bei dem Versuche 8, wo das Maximum der CO_2 -Ausscheidung ebenfalls auf die ersten 5 Tage gefallen war. Wir wollen noch verzeichnen, daß diese Maximalziffer von über 3,0 g als die allergrößte erscheint; bei den früheren Versuchen war die höchste Ziffer 2,6 g (Versuch 10). Auf dieses Maximum folgt, wie stets, eine Abnahme; innerhalb des zweiten Monats wurde, wie

auch bei dem vorigen Versuche, über zweimal weniger ausgeschieden, als innerhalb des ersten, doch ist das Verhältnis zwischen Maximal- und Minimalziffer hier, dank dem sehr hohen Maximum und teilweise dem recht niedrigen Minimum, im Vergleich zu sämtlichen früheren Versuchen das weiteste, 1 : 10. Was den nicht sterilisierten Boden anbetrifft, so hat hier die Ausscheidung von CO_2 denselben Charakter, doch den absoluten Ziffern zufolge war diese Ausatmung 2mal schwächer, als in dem sterilisierten, geimpften Boden. Doch im Vergleich zu den früheren Versuchen 2, 4 und 6 hat der im nicht sterilisierten Boden abgelaufene Oxydationsprozeß nichts außerordentliches an sich, weder was die Gesamtmenge von CO_2 (4,640 g), noch das gegenseitige Verhältnis der Ziffern betrifft, — innerhalb des ersten Monats wurde $1\frac{1}{2}$ mal mehr CO_2 ausgeschieden, als im zweiten, Maximum und Minimum wie 1 : 5. Unterscheidet sich der nicht sterilisierte Boden sowohl durch die Gesamtmenge von CO_2 , als auch durch die Ausscheidungsziffern von CO_2 ganz zu Beginn des Versuches merklich von dem sterilisierten, geimpften Boden des Versuches 11 durch seinen schwächeren Oxydationsprozeß der organischen Bodensubstanz, so gleicht sich ganz am Schlusse des Versuches die Energie dieses Prozesses bei beiden Böden beinahe aus.

Eine Ammoniakausscheidung war auch hier weder in dem einen, noch in dem anderen Boden vorhanden. Doch in bezug auf die Nitratbildung waren diese Böden auffallend verschieden. Der sterile Boden ergab nach dem Versuche 35,1 mg N_2O_5 pro 100,0 g trockenen Bodens (aus unbekanntem Grunde ist hier die Nitratmenge merklich geringer, als in dem sterilisierten Boden vor dem Versuche 48,3 mg), in dem sterilisierten, geimpften ist diese Menge bis auf 114,0 mg gestiegen, d. h. bis auf mehr als das dreifache, während in dem nicht sterilisierten Boden die Nitratmenge bis auf 12,3 mg, gegenüber 46,6 mg vor Beginn des Versuches, gesunken ist, d. h. die Nitratmenge ist ungefähr um das vierfache gefallen. Auf diese Weise geht im sterilisierten, geimpften Boden bei unseren Versuchen stets ein energischer Nitrifikationsprozeß vor sich, während in dem nicht sterilisierten Boden, dem einen ausgeführten Versuche zufolge, wenn ein derartiger Prozeß vielleicht sich auch abgespielt hat, ihn schließlich ein energischer Denitrifikationsprozeß, welcher die Nitrate stark zerstört hat, ersetzt hat. Ob dieser Unterschied eine zufällige Erscheinung oder das Resultat unserer Versuchsanordnung ist, läßt sich auf Grund einer einzelnen Beobachtung schwerlich sagen. Verzeichnet sei bloß, daß derselbe Boden nach Verlauf von 2—3 Monaten auf seine Nitrifikationstätigkeit nach der Methode von Prof. Bogdanoff von einem Praktikanten unseres Laboratoriums, H. Woitke-witsch, untersucht worden ist. 500,0 g dieses Bodens, nicht sterilisiert, mit einem Feuchtigkeitsgehalt von 25 Proz. wurden in einer offenen Glaschale bei 30°C in den Thermostaten gestellt; vor dem Versuche enthielt die Erde 43,3 mg, nach 2-tägigem Verweilen im Thermostaten stieg die Nitratmenge bis auf 55,5 mg; auf diese Weise wurde hier, in den ersten Tagen wenigstens, ein lebhafter Nitrifikationsprozeß konstatiert.

Analysen des Gesamtstickstoffes haben folgendes ergeben: In dem sterilen Boden war das Mittel von 2 Bestimmungen (eine dritte Analyse ist fehlgegangen) 0,4109 Proz. N, die Ziffern der einzelnen Bestimmungen 0,3975 und 0,4244; in dem sterilisierten, geimpften durchschnittlich 0,4084, der einzelnen Bestimmungen 0,4006, 0,4183 und 0,4065, in dem nicht sterilisierten nach dem Versuch durchschnittlich 0,4008, der einzelnen Bestim-

mungen 0,4049, 0,4007 und 0,3968; für den sterilisierten und nicht sterilisierten Boden vor dem Versuch waren die einzelnen Bestimmungen für ersteren 0,4149, 0,4246, 0,4550, für den anderen 0,4118, 0,4260, 0,4090. Trotzdem bei diesem Versuche die Vegetationsreste ebenfalls aus den für die Analysen abgewogenen Bodenportionen nicht entfernt worden waren, sind die Schwankungen in den Ziffern der einzelnen Bestimmungen hier bedeutend geringer und geben deswegen die Möglichkeit, eine sichere Schlußfolgerung zu machen. U. a. hat einer von meinen Mitarbeitern, L. Budinoff, behufs einer Berechnung des Sicherheitsgrades dieser Schlußfolgerung, diese Ziffern einer mathematischen Bearbeitung nach der Methode „der kleinsten Quadrate“ unterworfen, aber mit der Randbemerkung, daß die Anzahl der gegebenen Ziffern ungenügend ist. Diesen Berechnungen zufolge war für den sterilisierten Boden vor dem Versuche der Fehler der einzelnen Beobachtung $\pm 20,8$ mg, der Fehler der Durchschnittsziffer $\pm 12,0$ mg; bei dem sterilisierten, geimpften waren diese Ziffern $\pm 9,01$ und $\pm 5,2$, bei dem nicht sterilisierten vor dem Versuche $\pm 9,1$ und $\pm 5,2$, bei dem nicht sterilisierten nach dem Versuche $\pm 4,05$ und $\pm 2,3$; für den sterilen nach dem Versuche läßt sich eine derartige Bearbeitung bei Vorhandensein von bloß 2 Bestimmungen leicht ausführen. Vergleicht man nun den sterilisierten Boden vor dem Versuche mit dem sterilisierten, geimpften nach dem Versuche, so wird die Differenz zwischen ihren arithmetischen Mitteln 23,1 mg, der Fehler dieser Differenz $\pm 13,1$ mg betragen. Dieser Fehler ist geringer als die Differenz selbst; ebenso ist bei einem Vergleich des nicht sterilisierten Bodens vor und nach dem Versuche die Differenz der arithmetischen Mittel 14,8 mg, der Fehler der Differenz nach obiger Berechnung $\pm 5,7$, d. h. wiederum weniger, als die Differenz selbst. Auf diese Weise geben die Daten dieser chemischen Analyse die Möglichkeit, eine mehr wahrscheinliche Schlußfolgerung zu ziehen. Aus diesen Daten ist zu ersehen, daß der sterilisierte Boden vor dem Versuche 0,4315 Proz. N enthalten hat, während in dem sterilisierten, geimpften nach dem Versuche der N-Gehalt bis auf 0,4084 Proz. gesunken ist; dasselbe gilt für den nichtsterilisierten Boden; vor dem Versuche gab es 0,4156 Proz. N, nach dem Versuche sank diese Menge bis auf 0,4008 Proz. Mit anderen Worten, weder in dem einen, noch in dem anderen Boden hat nicht nur eine Fixierung des freien Luftstickstoffes, worauf wir bei der Verstärkung der Bakterienflora des Bodens durch Einführung von Reinkulturen des *B. radicola* und *Azotobacter* gerechnet haben, stattgefunden, sondern im Gegenteil hat der Boden einen Teil des Stickstoffes noch verloren. Wie dieser Verlust zustande gekommen ist, können wir schwer sagen; für den nicht sterilen Boden läßt sich derselbe in bedeutendem Maße durch den in ihm konstatierten Denitrifikationsprozeß erklären; in dem sterilen geimpften Boden ist dieser Verlust auf irgendeinem anderen Wege zustande gekommen.

Die Bestimmung der leicht löslichen Phosphorsäure ergab folgende Ziffern: Im sterilen Boden 0,0060 Proz., im sterilisierten, geimpften 0,0040 Proz., im nicht sterilisierten 0,0018 Proz., wir erinnern daran, daß es im sterilisierten Boden vor dem Versuche 0,0056 Proz., im nicht sterilisierten vor dem Versuche 0,0014 Proz. gab. Demnach ist unter dem alleinigen Einfluß der Sterilisierung die Menge der leichtlöslichen Phosphorsäure um 300 Proz. gestiegen; in der Folge stieg die P_2O_5 -Menge in dem binnen 2 Monaten steril gebliebenen Boden noch um 7,1 Proz., doch in demselben sterilisierten und geimpften Boden sank dieselbe um 28,5 Proz.; für den nicht sterilisierten

Boden stieg die P_2O_5 -Menge innerhalb 2 Monaten um 28,5 Proz. Demnach hat für den sterilisierten Boden, gleichwie bei dem vorhergehenden Versuche, der mikrobiologische Prozeß eine negative Rolle gespielt, indem er den Gehalt an leichtlöslicher Phosphorsäure herabgedrückt hat, während in dem nicht sterilisierten im Gegenteil die Menge derselben gestiegen ist.

Derartig sind die Resultate dieser 2 Versuche. Stellen wir sie in die Reihe mit dem, was wir aus den früheren in unserer ersten Abhandlung veröffentlichten Versuchen erhalten haben, so können wir folgende mehr oder minder wahrscheinliche Verallgemeinerungen machen. Zunächst wollen wir von der sterilisierten und geimpften Schwarzerde sprechen. Auf den Oxydationsprozeß der organischen Substanz der Schwarzerde hat ein Zusatz oder die Abwesenheit von Phosphorit augenscheinlich nicht den geringsten Einfluß; die Energie dieses Prozesses steht eher mit der Zusammensetzung der Bakterienflora in Zusammenhang, denn in denjenigen Versuchen (Tab. I, II, III), wo als Impfmateriel ein Auszug aus der nämlichen Schwarzerde, welche für den Versuch gedient hat, benutzt wurde, wurde bedeutend weniger CO_2 ausgeschieden, als bei den Versuchen, bei denen die Auszüge aus 2 oder 3 verschiedenen Böden, mit welchen eine mannigfaltigere Bakterienflora (Tab. IV, V, VI) eingeführt wurde, gebildet wurde. Der Charakter der CO_2 -Ausscheidung ist allenthalben ungefähr der gleiche. Ammoniak wurde nirgends ausgeschieden, so daß auch in dieser Hinsicht die Rolle des Phosphorits eine indifferente war. Bei den Bedingungen unserer Versuche erzeugt das mikrobiologische Leben der betreffenden Schwarzerde stets einen energischen Nitrifikationsprozeß, doch ob hier irgendein Zusammenhang mit der Gegenwart oder der Abwesenheit von Phosphorit existiert, läßt sich angesichts der bloß in geringer Anzahl vorhandenen Daten schwer sagen; bei dem Versuche mit Phosphorit ist die Nitratmenge um das 5-fache gestiegen, bei den 2 Versuchen ohne Phosphorit um das 3-fache. Aus den Daten der 2 in vorliegender Abhandlung angeführten Versuche geht hervor, daß ein Fixationsprozeß freien Stickstoffes unter den Bedingungen unserer Versuche nicht stattfindet; im Gegenteil, es wird ein Verlust an N konstatiert, und sonderbarerweise, was wir seinerzeit zu erwähnen vergessen haben, vollzieht sich dieser Verlust nicht nur unter dem Einfluß des mikrobiologischen Prozesses, sondern auch in sterilen Böden. Ein Versuch, die Fixierung des Stickstoffes durch Einführung von Reinkulturen des *B. radiculicola* und *Azotobacter* in den Boden zu heben, hatte keinen Erfolg und eine bakteriologische Analyse nach dem Versuche konnte ihre Gegenwart im Boden nicht nachweisen. Diese Schlußfolgerung hinsichtlich des Stickstoffes kann angesichts dessen, daß aus dem Boden die Vegetationsreste nicht entfernt waren, bloß bedingt anerkannt werden. Für die Phosphorsäure wird in steriler Schwarzerde stets im Verlauf des Versuches ein geringer Zuwachs an der leichtlöslichen Form konstatiert, mit dem Phosphorit erreichte dieser Zuwachs die Größe von 2,6 Proz. (Tab. IV), während ohne Phosphorit dieser Zuwachs sonderbarerweise höher ist, — 7,1 Proz. und sogar 18,4 Proz. Es müßte ja eigentlich umgekehrt sein, sollte man nicht die wenig wahrscheinliche Hypothese zulassen, daß unter dem Einfluß desselben Phosphorits ein Gegenprozeß, eine Degradierung der löslichen P_2O_5 , stattfindet. Der Einfluß des mikrobiologischen Prozesses äußerte sich auch vollkommen harmonisch in sämtlichen Versuchen mit Phosphorit sowohl, als auch ohne, doch bloß in entgegengesetzter Richtung gegenüber dem, was im toten Boden beobachtet wird,

weil überall ein Verlust an leichtlöslicher Phosphorsäure konstatiert wird, wobei mit Phosphorit dieser Verlust mehr als 46 Proz., ohne Phosphorit 5,2 Proz. und 28 Proz. betrug. Die Zifferdifferenzen sind recht hohe, und dennoch betonen wir, daß bei allen diesen Versuchen beinahe ein und dieselbe CO_2 -Menge ausgeschieden wurde; d. h. eines von den lösenden Elementen des Bodens war überall in gleicher Stärke vertreten, das mikrobiologische Leben des Bodens war sicher auch von gleicher Intensität, und nichtsdestoweniger war quantitativ der Effekt ein merklich verschiedener; insbesondere ist dieser Vergleich für die zwei letzten Versuche zulässig, weil beide ohne Phosphorit waren. In dieser Hinsicht muß eine in unserer vorigen Abhandlung gemachte Angabe berichtigt werden, daß nämlich bei den Versuchen mit größerer CO_2 -Ausscheidung auch ein größerer Verlust an leichtlöslicher Phosphorsäure bestand. Man muß annehmen, daß in den von uns erörterten Fällen auf den Endeffekt von Produktion der einen oder anderen Mengen leichtlöslicher Phosphorsäure die Unterschiede in der Artzusammensetzung der Bakterienflora des Bodens einen großen Einfluß ausüben. Was den nicht sterilisierten Boden anbetrifft, so unterscheidet sich derselbe von Daten seines Feuchtigkeitsgehaltes, der Bildung von CO_2 , Abwesenheit von Ammoniakausscheidung und dem Verlust an Gesamtstickstoff im Verlaufe des Versuches zufolge, wenig von dem sterilisierten, geimpften Boden, doch in bezug auf Zahl und Zusammensetzung seiner Bakterienflora, das Schicksal der Nitrate und der leichtlöslichen Phosphorsäure war er merklich verschieden. An Zahl der Bakterienflora war derselbe viel ärmer, als der sterilisierte, geimpfte; augenscheinlich bestand auch ein merklicher Unterschied in der Qualität der Bakterienflora. Hatte der sterilisierte Boden durch die Impfungen jene ganze Summe von Bakterienspezies, welche auch in dem nicht sterilisierten Boden vorhanden war, aufgenommen, so ging die Entwicklung dieser Spezies offenbar in anderem Tempo und in anderen proportionellen Verhältnissen zueinander vor sich, als in den nicht sterilisierten Böden. Das ist teilweise eine Folge der chemischen Umwandlungen, welche der Boden unter dem Einfluß der Sterilisierung erlitten hat, indem dadurch die Mikroben eine etwas andere Summe von Nährsubstanzen erhalten haben, teilweise eine Folge der Zerstörung oder Umwandlung derjenigen toxischen Substanzen im Boden, welche früher in demselben durch die Lebetätigkeit der Bakterien gebildet worden waren. Ferner ist es auch darauf zurückzuführen, daß der sterilisierte Boden für alle Bakterienspezies vom ersten Moment ab gleiche Entwicklungschancen darbot und erst später, auf dem Wege gegenseitiger Konkurrenz und Anpassung an das betreffende Nährmedium das eine oder andere Bakterienleben des Bodens sich ausglich. In dem nicht sterilisierten Boden gab es so was nicht; dort war das Bakterienleben schon längst in Ordnung, die Einführung anderer Bakterienspezies durch Impfungen stieß deswegen vom ersten Moment an auf Widerstand von seiten der einheimischen Flora, und vielleicht ist es bloß einem geringen Teil der neuen Ankömmlinge gelungen, sich anzusiedeln; die übrigen dagegen sind infolge Mangels der für sie notwendigen Nährsubstanzen, oder infolge einer toxischen Einwirkung des Bodens, oder schließlich infolge eines schwächer ausgebildeten Fortpflanzungsvermögens usw. zugrunde gegangen, oder in inertem Zustande verblieben ohne weitere Entwicklung.

Hatten wir dank der ausgeführten bakteriologischen Analyse die Möglichkeit, in dem hier erörterten Versuche den Unterschied zwischen der

Bakterienflora des sterilisierten und nicht sterilisierten Bodens einigermaßen zu klären, so liegt es auf der Hand, anzunehmen, daß dieser Unterschied, im Verein mit einiger Umwandlung des chemischen Bodengehaltes unter dem Einflusse der Sterilisierung, die Ursache eines andersartigen Verlaufes des mikrobiologischen Lebens und zusammen damit auch des Chemismus der Bodenprozesse in dem nicht sterilisierten Boden war. Anstatt eines intensiven Nitrifikationsprozesses, wie in dem sterilisierten Boden, fand in demselben eine Zerstörung der Nitrate, anstatt eines Verlustes an leichtlöslicher Phosphorsäure eine Zunahme statt. In bezug auf letztere befürchten wir einen Einfluß auf die Sicherheit der Schlußfolgerung durch Fehlerquellen in der chemischen Analyse selbst, weil die Mengen leichtlöslicher Phosphorsäure in dem nicht sterilisierten Boden an und für sich so gering sind, daß man bei einem Vergleich der Ergebnisse der Analysen die Schlußfolgerungen aus so geringen Größen zu ziehen gezwungen ist, wie Zehntausendstel Proz., was bereits im Bereiche von Fehlerquellen der Analyse selbst liegen kann. Übrigens erinnere ich daran, daß wir zur Bestimmung von P_2O_5 ein bedeutendes Bodenquantum nahmen, und zwar 900 g und 3600 ccm essigsauren Auszuges, so daß wir summa summarum dennoch im Tiegel Zentigramme in Gestalt von phosphorsauren Magnesiumsalzen erhalten.

U. a. hat diese Befürchtung eines Einflusses der Fehlerquellen der Analyse uns bewogen, von Anfang unserer Arbeiten die Versuche mit Böden auszuführen, bei denen der Phosphorsäuregehalt künstlich durch Phosphorit-zusatz gehoben war. Das wird man, behufs einer Kontrolle der Schlußfolgerung, mit dem nicht sterilisierten Boden machen müssen, abgesehen natürlich von Wiederholung der Versuche zur Sicherung des Resultates.

Nun wollen wir einige Versuche mit derselben Anordnung, aber mit Reinkulturen ausgeführt, vorführen; diese Versuche sind u. a. einige Jahre früher ausgeführt worden, als die eben beschriebenen. Bevor ich an ihre Schilderung gehe, will ich einiges über die Auswahl der Kulturen für die Versuche mitteilen, weil die Frage zu entscheiden war, welche Bakterien-spezies man als Impfmateriel benutzen muß, um einen möglichst größeren Effekt, d. h. eine Produktion einer möglichst großen Menge leichtlöslicher Phosphorsäure im Boden zu erzielen. Anfangs hatte ich die Absicht, durch oberflächliche Vorbeobachtungen aus dem Boden derartige Bakterien-spezies auszuscheiden und zu versuchen, welche die stärkste auflösende Wirkung, z. B. auf das Tricalciumphosphat, in künstlichen Nährsubstraten ausüben. Dazu hatte ich bis 10 verschiedene mineralische Lösungen mit Zusatz von Glukose, diverser organischer Säuresalze usw. zubereitet. Portionen zu je 100 ccm mit 0,5 g Tricalciumphosphat wurden nach erfolgter Sterilisierung mit Erde infiziert und bei 30° C auf 15—30 Tage in den Thermostaten gestellt. Eine stärkere oder schwächere Auflösung des Tricalciumphosphats wurde nach Augenmaß bestimmt an der Veränderung der ursprünglichen Konfiguration des Phosphatsatzes auf dem Boden des Kolbens und auf dem Wege eines Vergleiches der qualitativen Reaktionen auf P_2O_5 in den Filtraten. Jedoch mit solchen oberflächlichen Beobachtungen ist es nicht gelungen, etwas Interessantes zu eruieren, denn die Veränderungen der Konfiguration des Phosphatsatzes waren nicht selten durch reichlichen Bakteriensatz maskiert, ebenso waren die qualitativen Reaktionen ein wenig zu-verlässiges Material für die Beurteilung des Quantum leichtlöslicher Phosphorsäure. Mit einem Wort, die Resultate waren unklar, mitunter einander widersprechende. Hierauf versuchte ich die Agarplattenmethode mit 1 Proz.

Tricalciumphosphat, welche bereits Walter¹⁾ mit seinen Mitarbeitern benutzt hat. Zubereitet wurde gewöhnliches Nähragar, Agar auf zwei wässrigen Auszügen aus Schwarzerde, der eine 100,0 g Boden + 200 ccm Wasser bei zweistündiger Erhitzung in strömendem Wasserdampfe, der andere 100,0 g Boden + 500 ccm Wasser blieb 24 Stunden bei Zimmerwärme stehen, und ein Agar auf einigen mineralischen Lösungen. Die Platten wurden unmittelbar mit Erde infiziert.

Auf dem Nähragar wuchsen die meisten Kolonien, auf dem Bodenauszuge bei Zimmerwärme waren aber fast gar keine Kolonien vorhanden. Auf keiner einzigen Platte wurde eine Auflösung des Phosphates bemerkt. Die nachfolgenden Platten wurden mit Nähragar allein gemacht, dabei hatte ein Teil Nähragar mit 4 Proz. Milchzucker, ein zweiter mit 2 Proz. Glukose, ein dritter mit 6 Proz. KNO₃ und ein vierter Nähragar ohne jeglichen Zusatz. Die Aussaaten wurden mit Reinkulturen verschiedener Mikroben gemacht, dabei in Strichform auf Petrischalen. Die Aussaaten standen bei 30° C. Auf Agar mit 2 Proz. Glukose wurden 18 Reinkulturen ausprobt, davon hatte bloß ein Mikrobe eine Lösung des Phosphats zustande gebracht; dem Strich von dieser Kultur entlang hatte sich infolge der Auflösung der anliegenden Körnchen des Tricalciumphosphats ein deutlich gelichteter Agarestreifen gebildet. Dieser Mikrob entstammt der Laboratoriumskollektion und hat die Eigenschaft, Milch zu koagulieren und ihr einen bitteren Geschmack zu verleihen. Sein Speziesname wurde nicht bestimmt. Auf Agar mit 4 Proz. Milchzucker zeigte von 10 Kulturen bloß das *Bact. lactis acidi* eine deutliche Auflösung des Phosphats. Auf Agar mit 0,6 Proz. KNO₃ dokumentierte von 12 Kulturen ausschließlich denitrifizierender Mikroben keine einzige eine Auflösung des Phosphats. Auf bloßem Nähragar ohne jeglichen Zusatz wurden 42 Kulturen ausprobt, doch keine einzige bewirkte eine Auflösung des Phosphats. Noch wurde ein Ausstrich auf Agar aus Bohnendekokt mit Rohrzuckerzusatz mit einer Kultur des *B. radicola* gemacht, doch eine Auflösung des Phosphats fand auch hier nicht statt. Im ganzen wurden 74 Bakterienspezies geprüft.

Somit wurde auch auf diesem Wege nichts Interessantes erzielt.

In der Folge standen wir davon ab, für unsere Versuche geeignete Bakterien zu suchen, und zwar hauptsächlich aus dem Grunde, weil der von uns erwählte Weg eine exaktere Anordnung der Versuche erforderte, was uns zu weit abgelenkt hätte von unserer Hauptaufgabe, die Wirkung des mikrobiologischen Faktors nicht auf künstlichen Nährmedien, sondern unmittelbar im Boden aufzuklären. Das ist der Grund, weswegen wir bei der Auswahl von Bakterienkulturen für unsere Versuche uns von indirekten Erwägungen haben leiten lassen müssen, z. B. von dem Fortpflanzungsvermögen der Bakterienspezies in dem betreffenden Boden. So z. B. vermehren sich die von uns auserwählten *B. pyocyaneus* und *B. radicola* sehr energisch in Schwarzerde und müssen infolgedessen, wie man annehmen kann, überhaupt einen energischen Zersetzungsprozeß und Stoffwechsel im Boden erzeugen, oder wir mußten Mikroben mit interessanten physiologischen Eigenschaften usw. auserwählen. Wir wollen an dieser Stelle unsere Versuche mit *B. radicola*, *B. pyocyaneus* und einem zufälligen, im sterilen Boden als Verunreinigung gefundenen Mikroben, welchen wir mit dem Buchstaben „a“ bezeichnen, beschreiben. Unter diesen

¹⁾ Centralbl. f. Bakteriöl. Abt. II. Bd. XX.

Versuchen mit Reinkulturen werde ich einen beschreiben müssen, welcher eigentlich durchaus nicht behufs eines Studiums der Kultur angestellt war, denn die Anordnung desselben war darauf berechnet, gleich wie bei den vorigen Versuchen, eine Parallele zwischen dem sterilen und dem mit Bodenauszug geimpften Boden ziehen zu können, doch dank dem Umstande, daß der sterile Boden sich als zufällig mit einer unbekannten Bakterienspezies infiziert erwies, war die Möglichkeit geboten, diesen Versuch als wie einen mit Reinkultur durchgeführten zu betrachten.

Der Boden für diesen Versuch stammt aus derselben Schwarzerde aus dem Landgut von P. Lewitzky, welcher auch bei den früheren Versuchen benutzt wurde, aber von einer anderen Sendung im Juli 1906. Aus diesem Boden wurden, wie stets, 2 Portionen sterilen Bodens zu je 1100,0 g + 550 ccm Wasser zubereitet, wobei jede Portion noch einen Zusatz von 10,0 g Phosphorit erhielt, und zwar von demselben, welches bei den vorigen Versuchen verwendet wurde. Die Kolben mit den Böden wurden in die Apparate gestellt, wobei eine Portion steril belassen wurde, die andere mit 2 ccm eines Bodenauszuges aus einem Gemenge von 3 Böden (Schwarzerde des Versuches, Gartenerde der Station und Erde aus einem Vegetationsgefäß) infiziert wurde. Der Versuch wurde am 17. Oktober 1906 begonnen und dauerte 61 Tage. Die Ausscheidung von CO_2 ist aus nachstehender Tabelle VII zu ersehen:

VII.

Datum der Gewichtsbestimmung	Versuch 13 Sterilisierter, verun- reinigter Boden	Versuch 14 mit Auszug geimpfter Boden
	Menge der ausgeschiedenen CO_2 in Gramm	
22. Oktober	0,2164	0,7818
27. „	0,2878	0,6676
1. November	0,1710	0,9084
6. „	0,1850	0,8040
11. „	0,1854	0,7866
16. „	0,1874	0,6460
Insgesamt in 30 Tagen	1,2330	4,5944
21. „	0,1104	0,6060
26. „	0,1456	0,3590
1. Dezember	0,0982	0,5292
6. „	0,1012	0,4778
11. „	0,1316	0,4122
16. „	0,1090	0,4576
Insgesamt in 31 Tagen	0,6960	2,8418
„ „ 61 „	1,9290	7,4362

Nach Schluß des Versuches waren beide Böden nach Augenmaß gleich feucht und offenbar infolge dieses erhöhten Feuchtigkeitsgehaltes von gleich schlechter Struktur; beim Herausnehmen aus dem Kolben durch Umschütteln ballten sie sich zu großen Klumpen zusammen, die Reaktion war bei beiden neutral. Aussaaten auf Platten aus dem geimpften Boden ergaben, wie gewöhnlich, die Gegenwart einer ungeheuren Menge von verschiedenartigen Kolonien. Was den sterilen Boden anbetrifft, so bestand bereits wegen des in den ersten 10 Tagen aus demselben ausgeschiedenen Quantums von CO_2 kein Zweifel, daß er durchaus nicht steril war, was auch durch die Analyse bestätigt wurde. Aussaaten auf Agarplatten zeigten in den ersten 4 Tagen bei Zimmerwärme kein Wachstum von Kolonien, doch als

die Platten in den Thermostaten kamen, entwickelte sich eine ziemlich bedeutende Anzahl von Kolonien von gleichem Aussehen. Mit bloßem Auge betrachtet, erschienen die Kolonien sehr schwach entwickelt, als sehr zarte, kleine Pünktchen, bei 60-facher Vergrößerung waren sie rund oder oval, feinkörnig, farblos oder leicht gelblich; an der Oberfläche des Substrates entwickelten sich offenbar keine Kolonien, sie alle befanden sich in der Tiefe der Agarschicht. Die Kolonienzahl auf den Platten war viel geringer, als auf den Platten aus dem geimpften Boden. Überimpfungen aus diesen Kolonien auf Nähragar und Gelatine, letztere mit 4 Proz. Glukose, auf Kartoffel und Bouillon kamen nirgends zur Entwicklung. Somit muß man diesen Versuch von einem ganz anderen Gesichtspunkt aus, als vorausgesetzt, betrachten. Anstatt eines sterilen und geimpften Bodens haben wir nun 2 geimpfte Böden, davon einer zufällig infiziert durch eine nicht näher bestimmte Bakterienspezies, welche mit a bezeichnet sei, der andere mit seiner verschiedenartigen natürlichen Bakterienflora, noch kompliziert durch Beimischung von Bakterienspezies zweier anderer Böden. In dem mit dem Auszug geimpften Boden wurden innerhalb des ganzen Versuches 7,4 g CO₂ ausgeschieden, davon in den ersten 30 Tagen 4,5 g, in den weiteren 31 Tagen 2,8 g, d. h. innerhalb des zweiten Monats wurde ungefähr 1½mal weniger CO₂ ausgeschieden, als im ersten. Die größte Energie entfaltete der biologische Prozeß bei diesem Versuche in den dritten 5 Tagen; in der Folge kommt die gewöhnliche Abnahme, doch ziemlich langsam, so daß sogar ganz zu Ende des Versuches die Ausscheidung von CO₂ noch stark ist. Das Verhältnis zwischen Minimal- und Maximalziffer ist hier im ganzen 1 : 2,5. Im Vergleich zu den früher beschriebenen, analogen Versuchen nimmt dieser bezüglich der absoluten Ziffer ausgeschiedener CO₂ einen mittleren Platz ein, doch durch den Charakter der CO₂-Ausscheidung unterscheidet er sich ein wenig von den früheren Versuchen. Die Maximalziffer ausgeschiedener CO₂ steht bei diesem Versuche an letzter Stelle, ferner fällt dieses Maximum, zum Unterschied von den früheren Versuchen, nicht auf die ersten 5—10 Tage, sondern auf die dritten 5 Tage. In den zweiten 5 Tagen findet sogar eine geringe Abnahme statt. Fehlte bei diesem Versuche auch der höhere, aber kurze Oxydationseffekt der organischen Substanzen, wie bei den vorigen Versuchen, so existierte doch hier eine gleichmäßigere Arbeit im Verlaufe des ganzen Versuches, woraus eben für diesen Versuch die niedrigsten Verhältnisse der CO₂-Ziffern zwischen dem ersten und zweiten Monat, dem Maximum und Minimum, resultierten.

Betrachtet man nun den sterilen, aber zufällig durch eine Bakterienspezies infizierten Boden, so sieht man, daß unter dem Einflusse der Lebens-tätigkeit dieses Mikroben der allgemeine Charakter der CO₂-Ausscheidung eigentlich der gleiche ist, wie in den Böden mit ihrer natürlichen, mannigfaltigen Bakterienflora; der ganze Unterschied besteht bloß in dem Maßstabe dieser Tätigkeit. So hat in 61 Tagen ein Mikrobe 1,9 g CO₂, d. h. auffallend weniger, ungefähr um 4-mal, als in dem Parallelversuche ergeben, bei dem eine vielfältige Bakterienflora im Spiel war. Im Verhältnis zu den sterilen Böden ist die Tätigkeit dieses einen Mikroben verhältnismäßig nicht groß, aber dennoch wird unter seinem Einfluß das 3—6-fache CO₂ produziert gegenüber den sterilen Böden. Der Charakter der CO₂-Ausatmung ist, wie bereits gesagt, fast derselbe, wie in den mit den Auszügen geimpften Böden; die Maximalziffer der CO₂-Ausscheidung fällt auf die zweiten 5 Tage, mit nachfolgender Abnahme. Innerhalb des zweiten Monats wurde fast

2mal weniger CO_2 ausgeatmet, als im ersten; das Verhältnis zwischen Maximal- und Minimalziffer war wie 1 : 2,5; ganz am Ende des Versuches war der Mikrobe noch tätig, denn in den letzten 5 Tagen wurden 0,1 g CO_2 ausgeschieden, während in den sterilen Böden zu dieser Zeit nur Zentigramme produziert werden.

Was das Ammoniak anbetrifft, so wurde solches bei dem Versuche mit dem Mikroben „a“ gar nicht ausgeschieden, während bei dem mit Auszug geimpften Boden 0,5 ccm n/10 H_2SO_4 gesättigt wurden. Eine Bestimmung auf Phosphorsäure ergab in dem mit dem Mikroben infizierten Boden 0,0140 Proz. P_2O_5 , in dem mit Auszug geimpften 0,0078 Proz. Mit anderen Worten, unter der Einwirkung der vielseitigen und energischen Tätigkeit der üppigen und mannigfaltigen Bakterienflora des Bodens ergab sich im letzteren bedeutend weniger lösliche Phosphorsäure, als unter dem Einflusse der einseitigen und schwachen Tätigkeit des einen Mikroben; bei Gegenwart des letzteren gab es im Boden nur 80 Proz. mehr lösliche Phosphorsäure. Obgleich wir bei diesem Versuche nicht wissen, wieviel P_2O_5 im Boden vor dem Versuche enthalten war, so besteht nichtsdestoweniger auf Grund der zu Gebote stehenden Daten kein Zweifel daran, daß derselbe bei den Verhältnissen unserer Versuche das vordem erhaltene Resultat über negative Wirkung der Symbiose vieler Mikroben auf die Überführung schwerlöslicher Phosphorsäure in leichtlösliche bestätigt. Ich erinnere daran, daß der hier beteiligte Boden auf den Gehalt an P_2O_5 kurz vor Beginn des Versuches untersucht worden war; das Resultat dieser Analyse ist in der ersten Abhandlung angegeben. Der Boden wurde, nicht sterilisiert, mit 10,0 g Phosphorit pro 1100,0 g entnommen. Damals zeigte die Analyse einen Gehalt von 0,0184 Proz. P_2O_5 in demselben. Zieht man in Betracht, daß derselbe Boden, der zu dem Versuche entnommen war, noch sterilisiert wurde, so muß hier der Gehalt an P_2O_5 vor dem Versuche noch höher als 0,0184 Proz. sein. Somit muß man annehmen, daß in dem mit dem Auszug geimpften Boden eine sehr große Abnahme leicht löslicher P_2O_5 gegenüber ihrem ursprünglichen Gehalt stattgefunden hat. Geht man von diesen Erwägungen aus, so muß man dem Mikroben a ebenfalls eine negative Rolle bei der Anreicherung von leichtlöslicher Phosphorsäure zuschreiben, wenn dieselbe auch schwächer ausgeprägt ist als da, wo in dem Boden sich gleichzeitig viele verschiedene Mikroben befanden.

Der folgende Versuch wurde mit Schwarzerde einer späteren Sendung angestellt, und zwar im November 1906, d. h. von der nämlichen Sendung, aus der der Boden für die in Tabelle IV und V vorgeführten Versuche entnommen wurde.

Wie stets, wurden 2 Portionen, jede mit 10,0 g Phosphorit und 550 ccm Wasser, genommen; nach erfolgter Sterilisierung kam eine Portion steril in den Versuch, die andere mit 1 ccm einer Reinkultur des *B. radicola* in Bohnendekokt geimpft. Diese Kultur war kurz vorher aus Kleeknöllchen ausgeschieden und eine Vorprobe von Einimpfung in einen sterilen Boden erwies ihre Fähigkeit, sich energisch in Schwarzerde zu vermehren.

Leider erwies sich der sterilisierte, nicht geimpfte Boden auch hier offenbar von denselben Mikroben a infiziert, wie auch bei dem vorangegangenen Versuche. Eine bakteriologische Analyse nach dem Versuche ergab folgendes: Der als steril geltende Boden lieferte auf Agarplatten bei 30° C und auf Gelatineplatten bei Zimmerwärme gar keine Kolonien, doch auf Bohnen-Agarplatten erschien eine ansehnliche Anzahl von Kolonien ein und desselben Aussehens,

und zwar Tiefenkolonien, rund, oval oder kahnförmig, von blaßgelber Färbung, sehr feingekörnt, Konturen scharf abgegrenzt, nicht ganz eben, bei einzelnen Kolonien Zentrum dunkler und körnige Struktur schärfer ausgeprägt. Dieser zentrale Teil der Kolonien ist häufig von dem peripherischen durch eigene Konturen abgegrenzt, und an der Peripherie findet sich ein hellerer Hof; Oberflächenkolonien rund, fast farblos, körnige Struktur kaum angedeutet, Konturen hell, nicht ganz eben; makroskopisch runde, sehr feine, perlmutterartige Auflagerungen mit glatten Konturen. Das Wachstum ist im allgemeinen kümmerlich. Bei Einimpfung eines Bodenstückchens in Bohnenbouillon war die Entwicklung des Mikroben eine sehr schwache, die Bouillon wird kaum trübe, es bildet sich kein Bodensatz; mikroskopisch sieht man kurze und recht lange Stäbchen, die häufig gekrümmt sind und keine Eigenbewegung zeigen; in Nährbouillon aerober sowohl als auch anaerober keine Entwicklung; dasselbe in Gelatine und in Milch. Überimpfungen aus den Kolonien auf Bohnenagar, sowie auch aus der schwach getrübbten Bohnenbouillon in Form von Ausstrichen auf Bohnenagar ergaben kein Wachstum, aber Überimpfungen in Form von Aussaaten auf Platten lieferten, wie vorher, Kolonien mit kümmerlichem Wachstum. Bei Stichimpfung in Bohnenagar kam der Stich erst nach 8 Tagen in Gestalt eines sehr feinen, zarten Streifens, ohne sich an der Oberfläche zu verbreiten, zum Vorschein. Weiter setzte ich das Studium nicht fort, doch angesichts der Daten, welche zum Vergleich mit dem beim vorigen Versuche isolierten Mikroben vorhanden waren, waren beide offenbar identisch. Das schwache Wachstum des Mikroben bei dem vorigen Versuche auf Nähragar-Platten und der Umstand, daß der bei dem vorangegangenen Versuche ausgeschiedene Mikrob auf demselben Agar nicht wachsen wollte, sind noch kein genügender Anlaß dazu, dieselben zu trennen; eine derartige Erscheinung hat nicht allein einen zufälligen Charakter für Mikroben, welche überhaupt auf Nährmedien schlecht wachsen.

Was den mit *B. radicola* geimpften Boden anbetrifft, so entwickelt letzterer sich in demselben in kolossalen Mengen; eine Platinoese Boden lieferte Platten, welche durchweg von einer unzähligen Anzahl kleinster Kolonien überschüttet sind; nichts ähnliches ergeben Böden mit ihrer natürlichen Bakterienflora. Bei Impfung des sterilisierten Bodens mit einem Auszug erhält man, wie aus obigen Analysen zu ersehen ist, ebenfalls eine kolossale Menge von Keimen, aber dennoch ist diese Menge offenbar weit entfernt von dem, was der *B. radicola* liefert, wenn er allein im Boden sich entwickelt. Leider haben wir bis zur letzten Zeit keine quantitativen bakteriologischen Analysen unserer Böden nach Schluß des Versuches ausgeführt und sind darum einstweilen nicht imstande, unsere Beobachtung nach Augenmaß durch Zifferdaten zu bestätigen. Eine exakte Untersuchung dieses Bodens erwies, daß hier bloß eine Reinkultur des *B. radicola* vorhanden war; eine zufällige Verunreinigung durch den Mikroben „a“ gab es hier nicht.

Somit sind wir, entgegen der vorgesehenen Anordnung, dazu veranlaßt, den letzten Versuch als solchen zu betrachten, in welchem die zwei Versuchsportionen mit je einer Reinkultur zweier verschiedener Mikroben infiziert sind. Die Böden waren nach Schluß des Versuches feucht, die Reaktion der Auszüge neutral oder schwach sauer. Die Reaktion auf NH_3 war in beiden Böden eine starke; eine schwache Reaktion existierte auch auf HNO_3 . Der Ausscheidungsprozeß von CO_2 aus den Böden verlief, wie aus nachstehender Tabelle zu ersehen ist, folgendermaßen: Der Versuch wurde am 22. Februar 1907 begonnen und dauerte 55 Tage.

VIII.

Datum der Gewichtsbestimmung	Versuch 15 Sterilisierter verun- reinigter Boden	Versuch 16 Sterilisierter mit <i>B. radiculicola</i> geimpfter
	Menge der ausgeschiedenen CO ₂ in Grammen	
27. Februar	0,1134	0,1402
4. März	0,3054	0,3194
9. "	0,3444	0,4874
14. "	0,1184	0,2502
19. "	0,1008	0,1918
24. "	0,0988	0,0966
Insgesamt in 30 Tagen	1,0812	1,4856
29. März	0,1060	0,1082
3. April	0,1068	0,0598
8. "	0,1220	0,0648
13. "	0,1334	0,0592
18. "	0,1087	0,0412
Insgesamt in 25 Tagen	0,6369	0,3332
" " 55 "	1,7181	1,8188

Der zufällig mit einem Mikroben infizierte Boden hat in 55 Tagen des Versuches 1,7181 g CO₂, innerhalb des ersten Monats 1,0812 g, des zweiten 0,6369 g ausgeatmet, d. h. während des ersten Monats war der Oxydationsprozeß ungefähr 1½mal energischer, als im Verlaufe des zweiten, das Verhältnis zwischen Maximal- und Minimalziffer wie 1:3; ganz zu Ende des Versuches war die Tätigkeit des Mikroben noch im Gange, denn innerhalb der letzten 5 Tage wurde 0,1 g CO₂ ausgeschieden. Vergleicht man diesen Versuch mit dem vorigen Nr. 13, so ist es nicht schwer einzusehen, daß ihre Resultate beinahe identisch sind. Die Gesamtziffern des ausgeschiedenen CO₂ sind ungefähr gleich, besonders wenn man erwägt, daß die Dauer des Versuches 13 um 6 Tage länger ist; die oben genannten Proportionen sind auch wenig abweichend von denen des Versuches 13, die Ausscheidungskurven von CO₂ sind auch im allgemeinen analog; ein Unterschied besteht nur darin, daß bei dem letzten Versuch das Maximum der CO₂-Ausscheidung auf die dritten 5 Tage, bei Nr. 13 aber auf die zweiten fällt. Auf diese Weise bekräftigen diese Daten noch mehr unsere Annahme, daß bei den zu vergleichenden Versuchen ein und derselbe, zufällig nach erfolgter Sterilisierung am Leben gebliebene Mikrob im Spiel war. Bei dem Versuche mit einer Reinkultur des *B. radiculicola* wurde in 55 Tagen 1,8 g CO₂ ausgeschieden, im ersten Monat 1,4 g, im zweiten 0,3, d. h. im ersten Monat verlief der Oxydationsprozeß 4mal energischer, als im zweiten; Minimum und Maximum wie 1:10. Das Maximum fällt auf die dritten 5 Tage, danach folgt eine rapide Abschwächung des Prozesses. Somit ist die Tätigkeit des *B. radiculicola* im Boden, der Gesamtenergie des Oxydationsprozesses organischer Substanz des Bodens zufolge, die gleiche, wie die des Mikroben a, doch der Charakter der Entfaltung der Lebenstätigkeit ist ein merklich verschiedener. Bei dem *B. radiculicola* setzt die Lebenstätigkeit energischer ein, seine ganze Tätigkeit entfaltet er in dem ersten Versuchsmonat; hier hat er ein höheres Maximum als der Mikrob a, doch in der Folge nimmt sie rapid ab und fällt zum Schluß bis zu 0,04 g; in diesem Zeitpunkt ist das Bakterienleben offenbar kaum noch erhalten. Daran liegt es, daß bei dem *B. radiculicola* das Verhältnis der Maximal- und

Minimalziffer von CO_2 und der Gesamtziffern von CO_2 nach Monaten ein so weites ist; ein so weites Verhältnis bestand in keinem von den früheren beschriebenen Versuchen mit geimpften Böden, mit Ausnahme des Versuches 11. Bei einem Mikroben, welcher zufällig in einem Parallelversuche vegetierte, war die Tätigkeit zeitlich gleichmäßiger und deswegen das Verhältnis der genannten Ziffern zu einander bedeutend enger; zu Ende des Versuches entfaltet dieser Mikrob noch eine genügende Lebenstätigkeit.

Was die Ausscheidung von NH_3 anbetrifft, so wurde dieses in dem Boden mit dem Mikroben „a“ garnicht produziert, während bei dem Versuche mit *B. radicicola* insgesamt 0,3 ccm titrierter H_2SO_4 gesättigt wurde.

Eine Analyse auf Phosphorsäure ergab für den mit dem Mikroben a infizierten Boden 0,0123 Proz., für den Boden mit *B. radicicola* 0,0212. Somit erwies sich im Boden unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit des *B. radicicola* um 72 Proz. mehr leichtlöslicher Phosphorsäure, als unter dem des Mikroben „a“. Wie der Einfluß der Mikroben auf die vor Beginn des Versuches vorhanden gewesene Phosphorsäure sich geltend machte, läßt sich, in Ermangelung der Ziffergröße letzterer, genau nicht aussagen, doch an der Hand der Ziffer aus der Analyse des sterilisierten Bodens bei Beschreibung des Versuches der Tabelle IV. (die Böden der Tabellen IV und VIII entstammen einer Sendung) läßt sich dieser Einfluß mit einiger Sicherheit eruieren. Die P_2O_5 -Ziffer für den sterilen Boden vor Beginn des Versuches war 0,0192; nimmt man diese Ziffer als Ausgangspunkt für den von uns erörterten Versuch, so hat der Mikrob „a“ auch hier, gleichwie in dem vorangegangenen Versuche, eine negative Rolle bei dem Anreicherungsprozesse leichtlöslicher P_2O_5 im Boden gespielt, denn unter dem Einflusse seiner Lebenstätigkeit ist die P_2O_5 -Menge nicht nur nicht gestiegen im Verlaufe des Versuches, sondern im Gegenteil stark gefallen bis auf 0,0123 Proz. Der *B. radicicola* dagegen hätte einen positiven Effekt, indem er den Gehalt an Phosphorsäure bis auf 0,0212 Proz. erhöhte.

Ich gehe nun an die Schilderung des letzten Versuches, welcher bereits im Jahre 1904 angestellt worden ist. Der Boden für den Versuch entstammt derselben Sendung, wie der für die in voriger Abhandlung beschriebenen Versuche (Tabelle II und III), aus ein und demselben Sack, also Schwarzerde, zugesandt aus dem Landgut von P. Lewitzky bereits im Jahre 1902. Genommen wurden 2 Portionen zu je 1100,0 g und 500 ccm Wasser und je 10,0 g Phosphorit. Nach erfolgter Sterilisierung kam die eine steril in den Apparat, die andere wurde mit 1 ccm Reinkultur des *B. pyocyaneus* in Bouillon geimpft. Der Versuch wurde am 27. Februar 1904 begonnen und dauerte 60 Tage. Die Ausscheidung von CO_2 verlief, wie aus Tabelle IX zu sehen ist, folgendermaßen (s. p. 517):

Nach Schluß dieses Versuches waren die Böden noch merklich feucht, und nach Augenmaß war der sterile Boden trockener, als der mit *B. pyocyaneus* geimpfte; die Struktur des letzteren war bedeutend besser; beim Herausnehmen aus dem Kolben zerfiel derselbe leicht in Schollen und ließ sich ausgetrocknet leicht im Mörser verreiben, der sterile dagegen hatte eine feste, plastische Struktur, ausgetrocknet erschien er in Schollen, welche im Mörser nur schwer zerfielen. Die Reaktion beider Böden war neutral, eine Reaktion auf HNO_3 zeigten beide; HNO_2 war nicht vorhanden. Eine bakteriologische Analyse ergab, daß der nicht geimpfte Boden in der Tat steril war, und daß in dem Parallelversuch bloß der *B. pyocyaneus* allein in Reinkultur vorhanden war, wobei seine Entwicklung im Boden eine ko-

IX.

Datum der Gewichtsbestimmung	Versuch 17 steriler	Versuch 18 mit <i>B. pyocyaneus</i> geimpfter
	Menge der ausgeschiedenen CO ₂ in Grammen	
3. März	0,0952	0,4520
8. „	0,0450	0,2182
13. „	0,0348	0,1432
18. „	0,0174	0,0648
23. „	0,0264	0,0642
28. „	0,0176	0,0672
Insgesamt in 30 Tagen	0,2364	1,0096
2. April	0,0164	0,0322
7. „	0,0160	0,0690
12. „	0,0238	0,0570
17. „	0,0216	0,0498
22. „	0,0052	0,0296
27. „	0,0122	0,0548
Insgesamt in 30 Tagen	0,0952	0,2924
„ „ 60 „	0,3316	1,3020

lossale war; von einer Platinoese Boden waren die Platten durchweg mit kleinsten Kolonien übersät, ganz ebenso, wie bei dem vorigen Versuche mit *B. radiculicola*.

Betrachtet man die Tabelle, so sieht man, daß der sterile Boden insgesamt innerhalb 60 Versuchstagen 0,3316 g CO₂ ausgeschieden hat; im ersten Monat 0,2364, im zweiten 0,0952 g, d. h. im ersten Monat 2,5mal mehr, als im zweiten. Minimum und Maximum verhalten sich wie 1:18; zeitlich ist der Ausscheidungs-gang von CO₂ der gewöhnliche für sterilen Boden; das Maximum fällt auf die ersten Tage, darauf folgt eine konsequente Abnahme. Im Vergleich zu den analogen, früher beschriebenen Versuchen stimmt alles überein; ein merklicher Unterschied besteht bloß in dem bedeutend höheren proportionellen Verhältnis zwischen Maximal- und Minimalziffer von CO₂, was aber hier zufällig erscheint, infolge ungewöhnlich niedriger Minimal- und recht hoher Maximalziffer. Was den mit *B. pyocyaneus* geimpften Boden anbetrifft, so wurde hier im Verlaufe des ganzen Versuches 1,302g CO₂ ausgeatmet; im ersten Monat 1,0096, im zweiten 0,2924 g, d. h. im ersten 3,5mal mehr; Minimum und Maximum wie 1:15. Das Maximum der CO₂-Produktion fällt auf die ersten 5 Tage, um dann rapid abzunehmen, und zwar so rapid, daß bereits im vierten 5-tägigen Zeitraum das ausgeatmete CO₂-Quantum bis auf Centigramme abfiel und dabei bis zu Ende des Versuches stehen blieb. Im Vergleich zu den zwei vorigen Mikroben dokumentiert sich der *B. pyocyaneus* als der schwächste in bezug auf Energie des Abbaues organischer Substanz des Bodens, und das geschieht trotz seiner ungemein starken Entwicklung im Boden im Vergleich z. B. zu dem Mikroben „a“. Dem Gange der Ausatmung von CO₂ zufolge, im Sinne einer rapiden Abnahme seiner Lebens-tätigkeit, nähert sich der *B. pyocyaneus* sehr dem *B. radiculicola*, doch schreitet beim ersteren diese Abnahme noch rapider vorwärts und fällt bis zu einem niedrigeren Minimum, infolge dessen ist auch das Verhältnis zwischen Minimum und Maximum der CO₂-Ausscheidung bei dem *B. pyocyaneus* noch weiter, als bei dem *B. radiculicola*, dasselbe ist das weiteste von allen vorerwähnten. Der *B. pyocyaneus* entfaltet das

Maximum seiner Energie bereits in den ersten 5 Tagen, die bei den anderen Mikroben hingegen in den zweiten oder dritten 5 Tagen.

Vergleicht man mit einander den sterilen Boden und den mit *B. pyocyaneus* geimpften, so sieht man, daß unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit des *B. pyocyaneus* die Ausatmung von CO_2 aus dem Boden 4mal energischer vor sich ging, als in dem sterilen; das Verhältnis zwischen Maximal- und Minimalziffer ist jedoch bei beiden Versuchen annähernd das gleiche. Bei dem Boden mit *B. pyocyaneus* ist die Maximal- und Minimalziffer 4,5mal größer, als bei dem sterilen. In den letzten 5 Versuchstagen war, ungeachtet der starken Abschwächung der Lebenstätigkeit des *B. pyocyaneus*, die Ausscheidung von CO_2 dennoch 4,5mal stärker, als bei dem sterilen.

Was die Ammoniakausscheidung anbetrifft, so wurde im sterilen Boden 0,3 ccm, in dem mit *B. pyocyaneus* 0,2 ccm $\frac{n}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ gesättigt.

Eine Analyse auf Phosphorsäure dokumentierte im sterilen Boden 0,0171 Proz. P_2O_5 , in dem mit *B. pyocyaneus* geimpften 0,0190 Proz. Demzufolge ergab sich im Boden mit *B. pyocyaneus* um 11 Proz. mehr leichtlösliche Phosphorsäure, als im sterilen.

Aus den angeführten Versuchen mit Reinkulturen geht hervor, daß der Verlauf des von diesen im Boden hervorgerufenen Oxydationsprozesses im allgemeinen derselbe ist, wie bei mannigfaltiger Zusammensetzung der Bakterienflora; ein Unterschied besteht bloß in den Quantitäten der produzierten CO_2 . Bei Vegetierung im Boden irgend eines der von uns untersuchten Mikroben, und zwar des Mikroben „a“, des *B. pyocyaneus* und *B. radicola*, fällt die maximale Ausatmung auf die ersten 5—15 Tage, insgesamt wurde binnen 2 Versuchsmonaten 1,3—1,9 g CO_2 ausgeschieden; im Vergleich zum sterilen Boden liefert der biologische Prozeß hier das 4—6fache CO_2 , im Vergleich zu den mit Auszügen geimpften Böden 3—8 mal weniger. Die Energie des biologischen Prozesses in den zweiten 30 Versuchstagen wird $1\frac{1}{2}$ —4 mal schwächer. Die Maximalziffern der CO_2 -Produktion in 5-tägiger Zeitperiode schwanken bei den verschiedenen Mikroben von 2,8 g bis 0,48 g, die Minimalziffern von 0,02 g bis 0,09 g; die Verhältnisse der Minimalziffern zu den Maximalziffern schwanken von 1:2,5 bis zu 1:15. Zu Ende der Versuche ist die Lebenstätigkeit bei dem Mikroben a noch genügend hoch, bei *B. radicola* und *B. pyocyaneus* hingegen hört dieselbe fast ganz auf.

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß, wenn die einzelnen Bakterienpezies auch keine besonders auffallenden Unterschiede in bezug auf den Gang der CO_2 -Ausatmung aus dem Boden zeigen, man demnach bei jeder Bakterienpezies, sämtliche von uns angeführte Daten summierend, eine gewisse Individualität verzeichnen kann. Wie oben gesagt, ist der Oxydationsprozeß am schwächsten bei dem *B. pyocyaneus*, die beiden andern Mikroben sind in dieser Hinsicht gleich, doch was ihre Lebenstätigkeit anbelangt, so stehen *B. pyocyaneus* und *B. radicola* einander näher. Erwähnt sei auch, daß das Fortpflanzungsvermögen der Mikroben im Boden nicht im vollen Einklang steht mit dem von ihnen ausgeatmeten CO_2 -Quantum. Der Mikrob „a“ (wenn man allein nach den für ihn erhaltenen Aussaatplatten, auf denen er sich streitlos sehr schlecht entwickelt, urteilt) vegetierte sehr schwach im Boden, ergab jedoch im Verlaufe des Versuches die größte Produktion an CO_2 , während im Gegenteil der *B. pyocyaneus*,

bei ungeheurer Entwicklung, am wenigsten CO_2 ausgeatmet hat. Auf Grund des oben Verzeichneten kann man annehmen, daß ein solches Mißverhältnis vielleicht noch in auffälliger Weise zwischen den mit Auszügen und den mit Reinkulturen geimpften Böden existiert.

Was nun die leichtlösliche P_2O_5 anbetrifft, so sprechen die wenigen von uns angeführten Daten offenbar dafür, daß die Anreicherung oder Abnahme leichtlösliche Phosphorsäure im Boden unter den Bedingungen unserer Versuche und die Gegenwart einer einzigen Bakterienspezies im Boden im Zusammenhange steht mit den Eigenheiten jeder betreffenden Bakterienspezies. Die einen von ihnen, wie z. B. der Mikrob „a“, vermindern die Menge der leichtlöslichen Phosphorsäure im Boden, die anderen, wie z. B. *B. pyocyaneus* und *B. radiculicola*, erhöhen dieselbe. Aus welchen Vorgängen der Schlußeffekt zustande kommt, dies zu beantworten ist aus Ermangelung jeglicher Daten unmöglich. Irgend eine Abhängigkeit dieses Endresultates von größerer oder geringerer Energie der CO_2 -Produktion im Boden wahrzunehmen, ist unmöglich, denn der Mikrob „a“ und *B. radiculicola* haben bei gleicher Kohlendioxydproduktion in den Böden doch in bezug auf P_2O_5 ein diametral entgegengesetztes Resultat ergeben. Dieses Resultat mit der Fortpflanzungsenergie des Mikroben im Boden, in dem Sinne, daß bei stärkerer Vermehrung der Mikroben im Boden und bei Gleichheit der Energie des Oxydationsprozesses der Selbstverbrauch der Bakterienzellen an leichtlöslicher Phosphorsäure stärker sein wird, als die Produktion derselben im Vergleich zu dem Boden mit schwächerer Vermehrung, in Zusammenhang zu bringen, ist offenbar auch unmöglich, denn der Mikrob „a“ vermehrte sich, den Plattenaussaaten zufolge, im Boden sehr schwach und nichtsdestoweniger hat er den Gehalt an leichtlöslicher P_2O_5 sehr bedeutend herabgedrückt, und umgekehrt haben *B. pyocyaneus* und *B. radiculicola* bei ungeheurer Entwicklung im Boden die Menge der leichtlöslichen Phosphorsäure nicht nur nicht verringert, sondern im Gegenteil noch gehoben, und dabei war der Zersetzungsgrad der organischen Substanzen des Bodens und zusammen damit, wie man annehmen muß, auch die Intensität der chemischen Prozesse überhaupt, den Ziffern der ausgeatmeten CO_2 zufolge, die gleiche bei dem Mikroben „a“ und *B. radiculicola*. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Endeffekt der Bildung leichtlöslicher Phosphorsäure im Boden in bedeutendem Maße aus zwei Vorgängen sich zusammensetzte, dem Verbräuche von P_2O_5 durch die Bakterien und ihrer Auflösung unter der Einwirkung des Kohlendioxyds, doch dies alles war offenbar noch kompliziert durch andere Erscheinungen, welche wir nicht registrieren konnten und welche ebenfalls in engem Zusammenhange mit den physiologischen Arteigenheiten der Bakterien stehen.

Also können wir in Ergänzung zu der endgiltigen Schlußfolgerung der vorigen Abhandlung noch hinzufügen: 1. Unter den Bedingungen unserer Versuche findet in dem sterilisierten und darauf mit seiner natürlichen Bakterienflora geimpften Boden, unter der komplizierten Einwirkung der letzteren, die Abnahme an leichtlöslicher P_2O_5 sowohl mit als auch ohne Phosphoritzusatz zum Boden statt. 2. Eine jede der betreffenden Bakterienspezies erzeugt, bei alleiniger Anwesenheit im Boden unter den Bedingungen unserer Versuche, in Abhängigkeit von ihren physiologischen Art-

eigenheiten gegenüber der Phosphorsäure des Bodens einen gewissen bestimmten Effekt. Die einen von ihnen heben die Menge der leichtlöslichen Phosphorsäure im Boden, die anderen hingegen drücken sie herab, wobei dieser Endeffekt in keinem bestimmt wahrnehmbaren Einklange mit der Menge der im Boden produzierten CO_2 und dem Vermehrungsgrade der Bakterienspezies im Boden steht. Dieser Endeffekt kommt zustande durch eine komplizierte Wechselwirkung dieser Erscheinungen sowohl, als auch anderer, welche ebenfalls in engem Zusammenhange mit den physiologischen Arteigenschaften der Bakterien stehen.

Nachdruck verboten.

Über Nitrat- und Nitritassimilation und über eine neue Hypothese der Bildung von Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen.

Von Dr. Oskar Baudisch, Zürich.

Die Frage nach der Verarbeitung der Nitrate bzw. Nitrite in den Pflanzen und nach der Natur der primär entstehenden organischen Stickstoffverbindungen muß bis heute noch unbeantwortet bleiben.

In der großen Menge bisher geleisteter Arbeiten über dieses überaus wichtige Thema häufen sich Widersprüche auf Widersprüche, und man ist am Ende des Studiums der einschlägigen Literatur wieder am Anfang angelangt; es gelingt nicht, aus dieser großen Anzahl von Arbeiten einen Kern herauszuschälen oder einen Lehrsatz aufzustellen. Die Frage über Nitrat- und Nitritassimilation ist natürlich, da sie mit der Stickstoffdüngung eng verknüpft ist, auch für die Landwirtschaft von großem Interesse, und es sind diesbezüglich viele experimentelle Versuche auf landwirtschaftlichen Stationen ausgeführt worden. Diese Arbeiten können hier, da es zu weit führen würde, nicht berücksichtigt werden; die im folgenden angeführte kurze Literaturübersicht enthält nur die wichtigsten, rein wissenschaftlichen Arbeiten.

Aus einer Reihe von älteren Arbeiten¹⁾ können wir zunächst entnehmen, daß der Nitratgehalt in assimilierenden Blättern kleiner ist, als derjenige in Stengeln und Wurzeln. In der Arbeit von Pagnoul²⁾, betitelt „Einfluß des Lichtes auf die Pflanzen, hauptsächlich ihres Reichtums an Nitraten“ finden wir die folgenden interessanten Resultate: (s. Tabelle p. 521.)

Man sieht daraus, daß Lichtmangel den Zuckergehalt vermindert und den Nitratgehalt erhöht. Auf die interessanten Beziehungen zwischen Nitrat und Alkalikarbonat, die sich aus den Versuchen von Pagnoul ergeben, werde ich später noch zurückkommen.

Schimper³⁾ hat durch eine Reihe wichtiger Untersuchungen festgestellt, daß

¹⁾ Hoffmann, Arch. Pharm. Bd. CXXII. 865. p. 193; Hosaeus, Jahresber. Agrik. Chem. 1865. p. 87; Frühling, Landw. Versuchsst. Bd. IX. 1867. p. 150; Sorokin, Justs. Jahresber. 1875. p. 871; Emmerling, Landw. Versuchsst. Bd. XXIV. 1880. p. 136; Monteverde, Justs. Jahresber. 1883. Bd. I. p. 57.

²⁾ Annal. agronom. T. VII. 1881. p. 5.

³⁾ Schimper, Bot. Ztg. 46; Flora 73. 1890.

	In 100 Teilen gewachsen		
	in freier Luft	hinter durchsichtigem Glas	hinter geschwärztem Glas
Nitrate			
in Rüben	0,113	0,366	1,197
in Blättern	0,417	0,126	1,477
Alkalikarbonat			
in Rüben	0,764	1,214	1,454
in Blättern	1,567	1,178	1,457
Zucker			
in Rüben	9,45	5,75	1,66

in belichteten Laubblättern eine besonders intensive Nitratassimilation stattfindet und ist dadurch zu der Ansicht gelangt, daß die Nitratassimilation, analog der Kohlen-säureassimilation, ein lichtchemischer Vorgang sei. Godlewski¹⁾ konnte nachweisen, daß die Eiweißbildung im Licht in den Blättern mehr als dreimal so intensiv verläuft wie im Dunkeln.

Im Gegensatz zu diesen eben erwähnten Arbeiten, stehen die Erfahrungen von Zaleski und Suzuki.²⁾

Zaleski fand, daß abgeschnittene *Helianthus*blätter im Dunkeln auf Nitrat- und zuckerhaltiger Nährlösung schwimmend, ihren Eiweißgehalt namhaft vermehren. Daß im Dunkeln auf Kosten von Nitraten Eiweiß gebildet werden kann, schloß Suzuki aus seinen Versuchen mit etiolierten Gerstenkeimlingen, doch konnte er Proteinbildung nur dann konstatieren, wenn gleichzeitig eine starke Zuckerzufuhr stattfand. Bei Anwendung einer 1 proz. Zuckerlösung war eine Zunahme des Eiweißstickstoffes nicht wahrnehmbar. Sleskin³⁾ hat in neuester Zeit nachgewiesen, daß den Wurzeln nur eine absorptive, keine assimilatorische Funktion zukommt; das steht wieder im Einklang mit Schimpers Meinung, daß Nitrate am kräftigsten in Laubblättern assimiliert werden. Aus den Versuchen von Frau B. Iwanowska⁴⁾ geht dagegen wieder hervor, daß Pflanzeneiweiß im Dunkeln genau so wie im Licht abgebaut wird.

Euler⁵⁾ kommt nun auf Grund dieser widersprechenden Ergebnisse zu dem Schluß, daß nur ein Teil der Schimper'schen Hypothese akzeptiert werden könne, d. h. daß nur die schließlich zum Eiweiß führenden Kondensationen vom Licht direkt abhängig sind, nicht aber die Reduktion der Nitrate bzw. Nitrite.

Euler⁶⁾ schreibt weiter Folgendes in seinem Buch „Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie“: „In der Tat ist es durch Versuche von Zaleski und Suzuki nunmehr außer Zweifel gestellt, daß die eigentliche Nitratassimilation grüner Pflanzenteile kein photochemischer Vorgang ist.“

Dieser Meinung kann ich mich durchaus nicht anschließen.

Daß Nitrate bei großem Überschuß an Kohlehydraten im Dunkeln zur Eiweißbildung beitragen können, beweist noch lange nicht, daß die Nitratassimilation der belichteten Pflanzen kein photochemischer Vorgang ist. Bei Lichtabschluß können durch intramolekulare Atmung des Zuckers oder durch abnormale chemische Prozesse die Nitrate reduziert und Eiweiß aufgebaut werden, denn die Pflanze hat bekanntlich ein ausgezeichnetes Anpassungsvermögen. Wie Lefèvre⁷⁾ Versuche zeigen, kann z. B. die grüne Pflanze auf amidhaltigem Nährboden unter Ausschluß von Kohlensäure, aber bei Zufuhr von Licht sich fortentwickeln und ihr Trockengewicht vermehren, ohne daß Sauerstoff ausgeschieden wird.

Ich glaube, es fehlen bisher überhaupt exakte Experimente, welche die direkte Wirkung des Lichtes bei der Eiweißbildung in der Pflanze veranschaulichen.

¹⁾ Godlewski, Anzeig. Akad. Krakau. 1897; Bull. Acad. scienc. Cracovie. 1903.

²⁾ W. Zaleski, Ber. d. bot. Ges. Bd. XV. 1897. p. 536; Bot. Centralbl. Bd. LXXXVII. 1901. p. 281. Suzuki, Bull. Coll. Agric. Tokyo. Vol. II. p. 409; Vol. III. 1898. p. 241.

³⁾ Sleskin, Russ. Journ. f. experim. Landw. Bd. 9. 1908. p. 32.

⁴⁾ B. Iwanowska, Bull. Acad. Scienc. Cracovie. 1903.

⁵⁾ Euler, Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie. 1910.

⁶⁾ S. Euler, l. c. p. 132.

⁷⁾ J. Lefèvre, Compt. rend. T. 143. 1906. p. 322.

Die zweite Frage ist nun, was geschieht aus den aufgenommenen Nitraten, wie werden sie in der Pflanze weiter verarbeitet?

Heute weiß man aus der Fülle der diesbezüglichen Arbeiten nur das Wenige positiv, daß Nitrate in der Pflanze reduziert werden. Da Nitrite in den Pflanzen mit Sicherheit nachgewiesen werden konnten und auch Nitrite ebenso gute Stickstoffnahrung sind wie Nitrate, so nimmt man intermediär Nitritbildung an.¹⁾

Der Verlauf der weiteren Reduktion bis zu Ammoniak ist unbekannt und die Annahme von Bach, ferner von Laurent und Marchal, die Reduktion gehe über Hydroxylamin (NH_2OH) Formamid (HCONH_2) schließlich zu Blausäure (HCN) ist rein hypothetisch.²⁾ In rein chemischer Hinsicht ist über die Nitratreduktion mit Hilfe von Lichtenergie bis jetzt nur festgestellt worden, daß Kaliumnitrat in wässriger Lösung durch Bestrahlung mit Quecksilberdampflicht Sauerstoff abspaltet und in Kaliumnitrit übergeht.

In neuester Zeit wurde von Daniel Berthelot und Henry Gaudichon³⁾ Nitrifikation von Ammoniumsalzen und einigen organischen Stickstoffverbindungen durch Einwirkung ultravioletter Strahlen erreicht.

In meiner ersten Veröffentlichung über Nitrat und Nitritassimilation⁴⁾ habe ich bereits mitgeteilt, daß ich die Beobachtung machte, daß eine verdünnte Kaliumnitratlösung (1/20 n) im zerstreuten Tageslicht langsam Sauerstoff abspaltet und in Nitrit übergeht.

Als ich meine wissenschaftlichen Untersuchungen über Nitrat- und Nitritassimilation begann, wurde ich von folgenden zwei Grundgedanken geleitet:

Erstens nahm ich an, daß ein für das Leben der Pflanzen und Tiere so überaus wichtiger physiologisch-chemischer Prozeß, wie es die Nitrat- und Nitritassimilation ist, ein lichtchemischer Prozeß sein müsse, denn ich glaube, daß diese wichtigste Energiequelle speziell bei den primären chemischen Prozessen der Pflanze eine bedeutungsvolle Rolle spielt.

Zweitens leitete mich der Gedanke, es müsse ähnlich der Aldehydgruppe, und zwar speziell ähnlich dem Formaldehyd, die Nitrosylgruppe = NOH

($=\text{N} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{H} \end{smallmatrix}$, $\text{OHN} \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagup \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$)⁵⁾ in physiologisch-chemischer Hinsicht von großer

Bedeutung sein, denn sie hat mit der ihr verwandten Kohlenstoffgruppe die überaus große Reaktionsfähigkeit gemein. Nachdem von mir festgestellt worden war, daß Kaliumnitrat im zerstreuten Tageslicht langsam Sauerstoff abspaltet⁶⁾, war es naheliegend, zu untersuchen, ob Nitrosylkalium NOK nicht auch durch einfache Sauerstoffabspaltung durch Lichtenergie aus Kaliumnitrit gebildet werden könnte.

Es wurde, um dies festzustellen, eine verdünnte Kaliumnitritlösung mit 35 Proz. Formaldehydlösung vermischt und das Ganze an der Sonne belichtet, um das eventuell gebildete Nitrosylkalium NOK sofort an Formaldehyd zu binden, denn es war anzunehmen, daß in wässriger Lösung das hypothetische Nitrosylkalium gewiß sehr unbeständig sein würde. In der Tat trat auf Zusatz von Eisenchlorid zu der belichteten formaldehyd-

¹⁾ F. Perciabosco und v. Rosso, Staz. sperim. agrar. ital. 42. p. 5—36. Nach den neuesten Untersuchungen von B. Schulze, Fühlings Landw. Ztg. Bd. 10. 1911. p. 346—352, wirken Nitrite zunächst stark hemmend auf die Entwicklung der jungen Pflanze.

²⁾ Treboux, Ber. der deutsch. bot. Ges. Bd. 22. p. 570; Nitrite zeigen denselben oder einen besseren Nährwert als Nitrate.

³⁾ S. Euler, l. c. p. 134.

⁴⁾ Compt. rend. T. 152. 1911. p. 522.

⁵⁾ Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. 44. 1911. p. 1009.

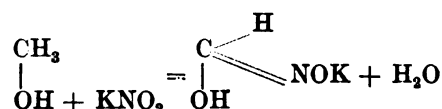
⁶⁾ Angeli-Arndt, Sauerstoffhaltige Verbindungen des Stickstoffs.

⁷⁾ O. Baudisch, l. c.

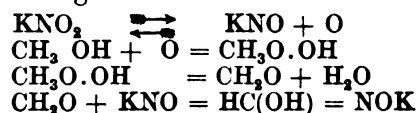
dischen Kaliumnitritlösung eine tiefbraunrote Färbung ein, während eine mit Quecksilberdampflicht belichtete Lösung von gleicher Konzentration in der gleichen Zeit mit Eisenchlorid bereits eine typische violettstichig rote Formhydroxamsäure-Eisenfärbung gab. Die Eisenreaktion allein konnte jedoch nicht maßgebend sein für die Anwesenheit von Formhydroxamsäure, auch der Nachweis durch Abscheidung als Kupfersalz gelang nicht, da viel zu kleine Mengen von der Säure gebildet wurden.

Dagegen gelang die Ausfällung der Formhydroxamsäure als Kupfersalz ausgezeichnet, als man den Formaldehyd durch Methylalkohol ersetzte.

In diesem Falle entsteht die Formhydroxamsäure in so großen Mengen, daß man sie mit Kupferazetat leicht abscheiden und die daraus freigemachte Formhydroxamsäure mit Sicherheit bestimmen kann. In meiner ersten Mitteilung „Über Nitrat- und Nitritassimilation“ habe ich den chemischen Vorgang so erklärt, daß der aus dem Kaliumnitrit abgespaltene, aktive Sauerstoff den Methylalkohol zu Formaldehyd oxydiert und dieser nun im status nascendi mit naszierendem Nitrosylkalium zusammentritt und Formhydroxamsäure bildet.



Bezüglich der Formaldehydbildung läßt sich dieser chemische Prozeß auch noch folgendermaßen gut erklären:



In diesem Falle nimmt man also eine intermediäre Bildung von Alkoholperoxyd an, das dann in Formaldehyd und Wasser zerfällt.

Die belichteten methylalkoholischen Kaliumnitratlösungen reagieren sowohl auf Lakmus als auch auf Phenolphthalein stark alkalisch. Diese alkalische Reaktion wird durch das im Licht aus Kaliumnitrat und Methylalkohol bzw. Formaldehyd gebildete Kaliumkarbonat bedingt.

Mit Silbernitrat entsteht eine gelbe Fällung, die fast momentan schwarz wird. Während stark belichtete Lösungen schon in der Kälte Goldchlorid momentan reduzieren und aus Fehling'scher Lösung Kupferoxydul abscheiden, finden diese beiden Reaktionen bei schwach belichteten Lösungen nicht statt. Dagegen kann man Formaldehyd schon in schwach belichteten Lösungen durch die bekannten Farbenreaktionen nachweisen, während man in stark belichteten Lösungen mit p. Nitrophenylhydrazin einen reichlichen Niederschlag des Formaldehyd p. Nitrophenylhydrazon erhält.

Aus den belichteten methylalkoholischen Kaliumnitrat- bzw. Nitritlösungen entweicht ferner ein ammoniakalisch riechendes, mit Salzsäure nebelbildendes Gas.

Die Bildung des Kaliumkarbonates in der belichteten Lösung dürfte höchstwahrscheinlich auf der hydrolytischen Spaltung des formhydroxamsäueren Kaliums beruhen, denn nach Hantzsch¹⁾ zerfallen bekanntlich Alkalisalze der Formhydroxamsäure in wässriger Lösung in Karbonat und Ammoniak. Bei der Belichtung einer neutralen, methylalkoholischen Kaliumnitratlösung ist von besonderem Interesse das äußerst rasche Auftreten der

¹⁾ A. 310. p. 15.

alkalischen Reaktion, d. h. die Bildung von Kaliumkarbonat. Die eigenartigen Beziehungen, die zwischen Nitraten und Alkalikarbonaten in der oben erwähnten Arbeit Pagnouls¹⁾ bestehen, scheinen darin ihre Erklärung zu finden. Der experimentelle Befund Pagnouls macht auch die Annahme wahrscheinlich, daß die von mir konstatierte Bildung von Kaliumkarbonat aus Nitraten im Licht auch in der assimilierenden Pflanze in dieser Weise vor sich geht.

Bokorny²⁾ hat bekanntlich mit Sicherheit nachgewiesen, daß Methylalkohol in grünen Pflanzen vorkommt und auch von diesen als Kohlenstoffnährstoff verwertet werden kann.

In jüngster Zeit wurde von Molisch und Hassack³⁾ gefunden, daß Wasserpflanzen während der Assimilation Phenolphthalein röten, die Rötung aber bei Nacht verschwindet. Hassack meint, daß die Pflanze während der Assimilation im Licht kohlen-saures Alkali abspaltet und daß dieses die Kalksalze als Karbonat fällt, die sich dann als Kalkinkrustationen in den Pflanzen festsetzen. Viktor Grafe⁴⁾ knüpft daran die Betrachtung, daß die bei der Assimilation entstehende Phenolphthalein rötende Base Kaliumkarbonat sei, das im status nascendi als Bikarbonat die Assimilation der Kohlensäure bewirkt und dann als fertig gebildetes, unwirksam gewordenen Salz ausgestoßen wird, wodurch das Ausbleiben der Alkaliauscheidung bei Nacht erklärt wird. Diese interessanten hypothetischen Betrachtungen über die Bildung von Kaliumkarbonat in der assimilierenden Pflanze werden durch meine experimentellen Befunde stark gestützt.

Jacques Loeb hat nachgewiesen, daß infolge der vielen vorhandenen Algen und ihrer Assimilationstätigkeit das Seewasser bei Tage alkalische Reaktion in äußerst zartem Maße besitzt. Auch hier wird man wieder den lichtchemischen Zerfall der Nitrate in Gegenwart von Formaldehyd über formhydroxamsaures Kalium zu Ammoniak und Karbonat als Ursache annehmen dürfen. Aus der folgenden Tabelle kann man ersehen, wie rasch methylalkoholische neutrale Nitratlösungen durch Lichtenergie alkalisch werden: (Tab. p. 525.)

Während eine neutrale methylalkoholische Kalium-Kalzium Magnesiumnitritlösung durch Belichtung in kurzer Zeit schwach alkalisch wird und sich bei Kalzium und Magnesium die festen Karbonate als Pulver abscheiden, reagieren belichtete neutrale, formaldehydische Kalium-(Ca, Mg)-Nitritlösungen infolge der gebildeten Ameisensäure sehr bald stark sauer.

Zum Studium der Lichtreaktion einer formaldehydischen, verdünnten Kaliumnitritlösung wurde, um die in großen Mengen entstehende Ameisensäure zu binden, Magnesiumkarbonat im Überschuß hinzugegeben.

Eine solche Lösung entwickelt, dem Sonnenlicht ausgesetzt, schon in kurzer Zeit ein farbloses Gas. Die Gasentwicklung wird nach und nach lebhafter und in einigen Tagen macht das verdrängte Wasservolumen 15—20 ccm aus. Die Analyse, die von Herrn Fuller ausgeführt wurde, ergab, daß das Gas zu 50 Proz. aus Stickoxydul und zu 50 Proz. aus Wasserstoff besteht.

In der belichteten Lösung verschwindet das Kaliumnitrit schließlich vollkommen, auch können keine Spuren von Nitrat nachgewiesen werden.

¹⁾ Pagnoul, l. c.

²⁾ Th. Bokorny, C. 1911. p. 1700.

³⁾ Molisch u. Hassack, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 18. Abt. I. 1909; 19. Abt. I. 1910.

⁴⁾ Grafe, Biochem. Zeitschr. 1911. p. 117.

195 V, 3.5 A.

Zeit Min.	KNO ₃ + CH ₃ .OH			Ca (NO ₃) ₂ + CH ₃ .OH		
	Alkali	Nitrit	FeCl ₃ -Reakt.	Alkali	Nitrit	FeCl ₃ -Reakt.
0	0	0	0	0	0	0
5	0	0		0		
10	0	0		0		
15	0	0		0	sehr schwach	
20	0	sehr schwach		0	„	
25	0	„		0	„	
30	0	„	0	0	schwach	0
35	0	„		0		
40	0	schwach		0	zieml. stark	
45	0	„		0		
50	0	„		0		
55	0	zieml. stark		0	stark	
60	0	„	Spur braun	0	„	0
65	0	„		0	„	
70	0	„		0	„	
75	0	„		0	„	
80	0	„		0	„	
85	0	„		0	„	
90	0	„	„	0	„	braun
95	0	„		0	„	
100	0	„		0	„	
105	0	„		0	„	
110	0	„		0	„	
115	0	„		0	„	
120	sehr schw.	„	„	sehr schwach	„	„
125	0	„		0	„	
130	0	„		0	„	
135	sehr schw.	„		sehr schwach	„	
140	„	„		schwach	„	
145	„	„		„	„	
150	„	„	schw. braun	deutlich	„	br. viol.
155	„	„		„	„	Beg. CaCO ₃ -
160	„	„		„	„	Ausscheid.
165	schwach	„		„	„	
170	„	„		„	„	
175	deutlich	„		„	„	
180	„	„	„	„	„	br. viol.
185	„	„		„	„	
190	„	„	„	„	„	
195	„	„		„	„	
200	„	„		„	„	
205	„	„		„	„	
210	„	„	„	„	„	„
215	„	„		„	„	

Der vorher an Sauerstoff gebundene Stickstoff ist nun zum Teil als Ammoniak oder Amin in der Lösung, zum Teil jedoch in einer Form gebunden, über die ich heute noch nichts bestimmtes aussagen kann. Um ein Bild zu bekommen, wie rasch Kaliumnitrit in Gegenwart von Formaldehyd am Tageslicht oder bei Bestrahlung mit Quecksilberdampflicht zu Ammoniak und zu der noch unbekannten stickstoffhaltigen Verbindung reduziert wird, sei hier ein Beispiel angeführt:

200 ccm einer Lösung, welche aus 300 ccm 35-proz. Formaldehyd, 700 ccm Wasser, 5 g Kaliumnitrit und 20 g Magnesiumkarbonat besteht, werden in einem Quarzkolben unter Wasserkühlung mit Quecksilberdampflicht (110 V.

2,5 Am. Abstand = 5 cm) bestrahlt. Nach 12stündiger Bestrahlung ist der zuvor farblose Inhalt des Kolbens schwach gelb gefärbt; mit Eisenchlorid gibt eine Probe typische Hydroxamsäure-Eisenfärbung, mit Goldchlorid momentan Goldabscheidung. Jodkaliumstärkepapier wird nach dem Ansäuern schwach blau. Nach 74stündiger Bestrahlung ist die Flüssigkeit wieder farblos, die Reaktion auf Nitrat und Nitrit ist vollkommen verschwunden, ebenso die Reaktion auf Formhydroxamsäure. Aus 50 ccm der belichteten Flüssigkeit wurde mit Kalilauge das Ammoniak ausgetrieben und in titrierte Säure eingeleitet. Das so erhaltene Ammoniak auf Stickstoff umgerechnet, ergab 22,5 Proz. Beim Kochen mit Kalilauge wird die klare Flüssigkeit tief gelb gefärbt. Die von Ammoniak bzw. Aminen befreite Flüssigkeit wurde nun mit Devarda'scher Legierung so lange gekocht, bis keine basischen Verbindungen mehr weggingen. Es wurden 11,8 Proz. Stickstoff gefunden. Die fehlenden 65,7 Proz. Stickstoff scheinen in Form von Stickoxydul weggegangen zu sein. Diese hier angegebenen Zahlen können natürlich je nach der Belichtung, der Höhe der Temperatur, der Konzentration usw. sehr großen Schwankungen unterworfen sein. Belichtet man eine formaldehydische Kaliumnitritlösung von der oben angegebenen Konzentration am Tageslicht, so dauert es 4 Wochen, bis sowohl Nitrit- als Nitratreaktion verschwunden sind.

Die Analyse ergab in diesem Falle 7,17 Proz. Stickstoff in Form von Ammoniak bzw. Aminen und 42,5 Proz. Stickstoff, die durch alkalische Reduktion erhalten wurden. Die fehlenden 50,31 Proz. Stickstoff scheinen wieder dem schon früher erwähnten Stickoxydul anzugehören. In dieser Richtung werden noch verschiedene quantitative Untersuchungen ausgeführt werden, weil sie für die Beurteilung dieser Lichtreaktion von Interesse sind.

Borczow hat nachgewiesen, daß Stickoxydul von der Pflanze aufgenommen und verarbeitet werden kann. Trotzdem lege ich der Bildung dieses Gases keine besondere physiologisch-chemische Bedeutung bei; ich glaube, es entsteht dieses Gas als sekundärer Prozeß, und ich werde im zweiten Kapitel dieser Abhandlung noch ausführlich darauf zu sprechen kommen.

Von großem Interesse ist die Bildung des Wasserstoffes in einer belichteten formaldehydischen Kaliumnitritlösung.

Polacci¹⁾ hat die Beobachtung Boussingaults wie jene Boehms bestätigt, daß grüne Pflanzen im Sonnenlicht wägbare Mengen Wasserstoff ausatmen.

Was die Bildung des Wasserstoffes in einer belichteten, schwach alkalischen, formaldehydischen Kaliumnitritlösung anbelangt, so glaube ich, daß derselbe durch Oxydation des Formaldehyds entsteht. Bekanntlich wird Formaldehyd in alkalischer Lösung ganz besonders von Superoxydsauerstoff sehr leicht zu Wasserstoff und Ameisensäure verbrannt.

Belichtet man eine formaldehydische Kaliumnitritlösung ohne Zusatz von Magnesiumkarbonat, so findet in gleicher Weise im Lichte eine Gasentwicklung statt, die nach und nach lebhafter wird. Das von Herrn Fuller untersuchte Gas ergab folgende Zahlen:

$$\begin{aligned}\text{CO}_2 &= 5,49\% \\ \text{CO} &= 4,71\% \\ \text{O}_2 &= 5,84\%\end{aligned}$$

¹⁾ Polacci, Atti dell'instit. botan. dell'università Pavia. T. 7. 1902.

$$\begin{array}{l} \text{H}_2 = 17,89\% \\ \text{N}_2\text{O} = 64,40\% \end{array}$$

Auch hier verschwindet, wie bei den vorher beschriebenen Versuchen, das Nitrit schließlich vollkommen, dagegen ist aber in diesem Falle in der belichteten Lösung neben wenig Ammoniak in ziemlich großen Mengen Kaliumnitrat gebildet worden. Über die Bildungsweise der verschiedenen oben angeführten Gase wird im zweiten Kapitel noch ausführlich berichtet werden.

Den Verhältnissen in der Pflanze ist der Versuch, bei welchem man die gebildete Ameisensäure mit Magnesiumkarbonat abstumpft, bedeutend besser angepaßt. Betrachtet man diese typische Lichtreaktion näher, so findet man die folgenden höchst interessanten Beziehungen zwischen Nitrat bzw. Nitrit und Kohlensäureassimilation.

In der formaldehydischen Kaliumnitritlösung wird zunächst durch Lichtenergie Sauerstoff aus dem Kaliumnitritmolekül abgespalten, der einen Teil des Formaldehyds zu Wasserstoff und Ameisensäure verbrennt. Das freigewordene Nitrosylkalium NOK reagiert zum Teil mit dem vorhandenen Formaldehyd unter Bildung von formhydroxamsaurem Kalium, das wiederum in Ammoniak und Kaliumkarbonat zerfällt. Es entsteht somit in dem System



naszierender Wasserstoff und auch Kaliumkarbonat im Entstehungszustand. Beide Reaktionsprodukte sind aber nach den neuesten, bedeutungsvollen Untersuchungen von Stoklasa und Zdobnický¹⁾ von großer Wichtigkeit für die Assimilation der Kohlensäure. Die beiden Forscher fanden, daß die Reduktion der Kohlensäure durch Lichtenergie und die Bildung von Zucker außerhalb der Pflanze nur dann vor sich geht, wenn Alkali und naszierender Wasserstoff gegenwärtig sind.

Nach Stoklasa wird die Kohlensäure, die durch die Spaltöffnungen dringt, von den chlorophyllhaltigen Zellen sofort absorbiert und das Kaliumkarbonat in Kaliumbikarbonat umgewandelt. Das Kaliumbikarbonat gelangt dann in das Protoplasma der assimilierenden Gewebe.

Der Ansicht von Stoklasa und Zdobnický, daß der nötige Wasserstoff durch die Wirkung glukolytischer Enzyme entsteht, schließe ich mich nicht an. Ich glaube, daß viel eher auch in der assimilierenden Pflanze der Wasserstoff beim Zerfall der Nitrates durch Lichtenergie in der oben angegebenen Weise gebildet werden kann. Die Bildung des Kaliumkarbonats aber, die man bisher nur vermutet hat, ist durch meine experimentellen Untersuchungen außerhalb der Pflanze als Zerfallsprodukt der Nitrates bzw. Nitrite durch Lichtenergie sichergestellt worden.

Die beiden hier erwähnten Tatsachen lassen mich vermuten, daß die Nitrat- bzw. Nitrit- und Kohlensäure-Assimilation zwei ineinandergreifende, Hand in Hand gehende — gekoppelte — lichtchemische Prozesse sind.

Für die Pflanze ist bei dieser Annahme die Anwesenheit von Formaldehyd für die in Betriebsetzung der Assimilationsmaschine, d. h. für die Bildung von naszierendem Wasserstoff notwendig. Wir können in jedem Keimling die Bildung von Formaldehyd erwarten, denn bei der Keimung zerfallen bekanntlich die Vorratsstoffe in einzelne Komponenten, wie besonders aus

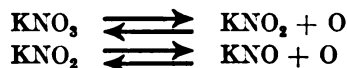
¹⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 30. 1911. p. 434.

den bedeutungsvollen Arbeiten von Schulze und von Winterstein zu entnehmen ist.

Es haben ferner W. Loeb und Pulfermacher gezeigt, daß die Zuckersynthese aus Formaldehyd umkehrbar ist, d. h. es sind Pentose und Formaldehyd sowohl Phasen der Zuckersynthese, wie die der Zuckerspaltung.

Winterstein und Trier¹⁾ halten auch eine Bildung von Formaldehyd im Keimling ohne Zufuhr von strahlender Energie für möglich, weil dieses wichtige Spaltungsprodukt einfach auch durch Oxydationsprozesse bei der Atmung des Keimlings entstehen kann.

Aus dem bisher Angeführten ergibt sich außer anderem, daß Nitrate bzw. Nitrite in Gegenwart von Methylalkohol oder von Formaldehyd durch Lichtenergie leicht bis zu Ammoniak bzw. Aminen reduziert werden. In meiner ersten Publikation habe ich bereits mitgeteilt, daß man eine verdünnte Kaliumnitratlösung durch tagelange Bestrahlung mit Quecksilberdampflicht auch ohne jeden Zusatz schließlich bis zu Ammoniak reduzieren kann. Trotzdem die Nitratlösung in einem Quarzröhrchen ganz nahe der Lampe hing, sodaß die Temperatur der Lösung durchschnittlich 70—80° betrug, ging die Reduktion nur äußerst langsam vor sich. Ganz anders verhält es sich — wie vorauszusehen war — wenn man dafür sorgt, daß das Gleichgewicht der Lichtreaktionen



gestört wird.

Belichtet man z. B. eine verdünnte Kaliumnitritlösung, die Manganazetat gelöst enthält, so tritt schon im zerstreuten Tageslicht nach wenigen Minuten eine intensive Braunfärbung auf, die durch eine feine Braunsteinausscheidung bedingt wird. Dieser Versuch beweist, daß im Kaliumnitrit-Molekül im Tageslicht sehr rasch eine Sauerstoffabspaltung stattfindet. Dieser Versuch verläuft analog mit Kalium-, Kalzium- oder Magnesium-Nitrat. Der abgespaltene, atomistische Sauerstoff wirkt stark oxydierend und ist in seinen Eigenschaften von Peroxyd-Sauerstoff nicht zu unterscheiden. Man kann, allgemein gesprochen, durch Zugabe von leicht oxydablen Substanzen oder von solchen chemischen Verbindungen, die Nitrosylkalium leicht binden oder zerstören, den Verlauf der Lichtreaktionen außerordentlich beschleunigen. So wird z. B. Azetaldehyd im Licht durch Kaliumnitritlösung äußerst rasch zu Essigsäure oxydiert, daneben bildet sich Azethydroxamsäure, die mittels der Eisenreaktion deutlich nachweisbar ist. Entsprechend ähnlich verhalten sich Isobutyraldehyd, Valeraldehyd, Akrolein und andere alyphatische Aldehyde. Eine mit Jodkaliumstärkekleister versetzte Kaliumnitratlösung färbt sich durch Bestrahlung mit Quecksilberlicht momentan tiefblau.

Eine Lävulose enthaltende, verdünnte Kaliumnitratlösung wird im Licht schließlich bis zu Ammoniak reduziert, dabei reagiert die zuvor neutrale Lösung sowohl auf Lakmus als auch auf Phenolphthalein alkalisch. Das dabei entweichende Gas wurde als Kohlenmonoxyd identifiziert, die Lösung enthält ferner auch geringe Mengen Formaldehyd.

Auch in Gegenwart von Azeton wird Kaliumnitrit äußerst rasch bis zu Ammoniak reduziert, dabei tritt ein Azetamid ähnlicher Geruch auf.

So könnten noch viele Beispiele angeführt, noch viele in Pflanzen vor-

¹⁾ E. Winterstein und G. Trier, Die Alkaloide. p. 383.

kommende chemische Verbindungen aufgezählt werden, die die Nitrat bzw. Nitritreduktion durch Lichtenergie außerordentlich beschleunigen.

Aus meinen bisherigen experimentellen Ergebnissen ist die Ansicht bezüglich der Frage, ob die Nitrat bzw. Nitritassimilation und speziell der erste Teil derselben d. h. die Reduktion der Nitrates ein lichtchemischer Prozeß ist, wieder näher zu der Schimper'schen Anschauung gerückt.

Ich stehe auf Grund der rein chemischen Ergebnisse schon heute auf dem Standpunkt, daß die Nitrat- und Nitritassimilation ein genau so wichtiger lichtchemischer Prozeß für Pflanzen und Tiere ist, wie die Kohlensäure-Assimilation.

Wie überaus bedeutungsvoll das Licht für assimilierende, grüne Laubblätter sein muß, wird von pflanzenphysiologischer Seite in glänzender Weise in den klassischen Arbeiten von J. v. Wiesner und von G. Haberlandt erbracht.

II. Kapitel.

Bis heute und wohl noch für absehbare Zeiten ist es ein Vorrecht der assimilierenden Pflanze, aus einfachsten Bestandteilen der leblosen Materie, d. h. aus Wasser, Kohlensäure, Nitraten und einigen anderen anorganischen Salzen des Erdbodens höchst komplizierte organische Stoffe zu erzeugen.

In das zauberhafte Getriebe dieser überaus komplizierten Maschine, in das innerste Weben und Wirken, in das Wesen der chemischen Vorgänge einzudringen, ist bisher noch keinem Sterblichen geglückt, und die Vorstellungen, die wir uns heute über die Synthese des lebenden Eiweiß machen, sind nur auf Hypothesen aufgebaut.

Anders steht es hingegen schon mit unserer Kenntnis vom toten Eiweiß und dessen hydrolytischen Spaltungsprodukten. Die klassischen Arbeiten von Schulze, A. Kossel, Abderhalden u. a. und in erster Linie von Emil Fischer haben den dichten Schleier, der vor nicht allzu langer Zeit auch dieses Gebiet der Biochemie zudeckte, gelüftet und uns neue Wege und Bahnen eröffnet, um in dieses unerforschte Gebiet eindringen zu können.

Durch Verkettung von Aminosäuren ist Emil Fischer zu Protein ähnlichen Verbindungen gelangt, die er als Polypeptide bezeichnet.

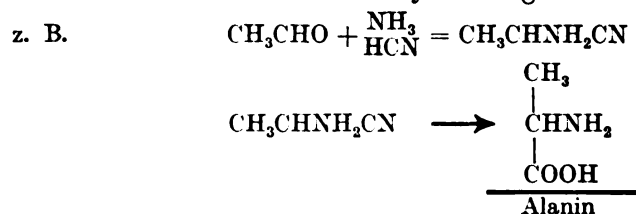
Ob die Pflanze für die primäre Eiweißsynthese zuerst Aminosäuren bildet, oder ob die Bildung des Eiweiß aus den anorganischen Bestandteilen auf andere Weise erfolgt, muß bis jetzt unbeantwortet bleiben. Die Lösung dieses Problems ist eine der wichtigsten biologischen Streitfragen. Man nimmt heute vielfach an, daß in der assimilierenden Pflanze zunächst aldehydaminartige Verbindungen entstehen, die sich dann zu dem großen Komplex der Proteine kondensieren.

Ich halte es für ziemlich unwahrscheinlich, daß die Pflanze zuerst die verhältnismäßig chemisch trägen Aminosäuren bildet, um daraus Eiweiß aufzubauen.

Für das Leben der Pflanze ist es sicher von größter Bedeutung, möglichst rasch hochmolekulare, stickstoffreiche Verbindungen zu erzeugen, die in den Kern wandern, da sie hier bei der Teilung desselben für die Bildung neuer Zellen von größter Wichtigkeit sind. Bekanntlich sind Kernproteine ganz besonders stickstoffreich.

Über die Bildung der Aminosäuren in den Pflanzen existieren einige Hypothesen, die ich hier einer kurzen Kritik unterziehen möchte: Nach der

Ansicht von W. Treub kämen Cyanverbindungen als erstes Stickstoff-Assimilationsprodukt in Betracht. Treub hat bekanntlich in vielen Pflanzengattungen Blausäure nachgewiesen, und stellt, nun anknüpfend an diesen Befund, die Hypothese auf, die Aminosäuren würden in den Pflanzen im Sinne der Streckerschen Synthese gebildet.



Die Bildung der Blausäure aus Nitraten wird dabei stillschweigend angenommen. In neuester Zeit hat Hartwig Franzen diese Treub'sche Hypothese weiter ausgebaut und auf die Synthesen der bekannten Aminosäuren anzuwenden gesucht.

H. Franzen¹⁾ bringt zunächst eine ziemlich umständliche Erklärung der Bildung von Blausäure aus Nitraten, der ich mich nicht anschließen kann. Für die Deutung der Bildung des Alanin im Sinne der Streckerschen Synthese bedarf es bekanntlich des Azetaldehyd. H. Franzen glaubt nun, daß die Pflanze zuerst Äpfelsäure bildet und diese über Malonsäurealdehyd in Azetaldehyd und Kohlensäure zerfällt.

Für die Aminosäuren, denen die Gruppe $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} > \text{CH}$ — zugrunde liegt,

nimmt H. Franzen Azeton als Stammkörper an. Azeton soll nun in der Pflanze nach seiner Ansicht aus Zitronensäure gebildet werden, indem diese Säure unter dem Einflusse des Lichts Ameisensäure abspaltet und hierbei in Azetondikarbonsäure übergeht. Die Azetondikarbonsäure spaltet nun wieder unter dem Einfluß des Lichtes ein Molekül Kohlensäure ab und gibt nun die Azetonmonokarbonsäure, die weiter in Azeton und Kohlensäure zerfällt. Ich will nicht weitere Beispiele herausgreifen und nur an die eben angeführten meine Betrachtungen knüpfen.

Es ist gewiß nicht zu bestreiten, daß durch oxydativen Abbau oder durch Spaltung im Licht Azetaldehyd und Azeton auf diesem hier geschilderten Wege entstehen können, daß aber die assimilierende Pflanze zunächst Dissimilationsprodukte — und als solche sind die Pflanzensäuren heute bekanntlich aufzufassen — erzeugt, um aus diesen wieder die wichtigsten Assimilationsprodukte aufzubauen, ist höchst unwahrscheinlich.

Ich glaube überhaupt nicht an eine biologisch-chemische Bedeutung der Streckerschen Synthese; sie bedeutet, da Nitrate erst bis zu Blausäure und Ammoniak reduziert werden müssen, einen enormen Energieverlust, und das widerspricht den Gesetzen der haushälterischen Natur. Die Blausäure ist meines Erachtens nicht als erstes Assimilationsprodukt des Nitrat- bzw. Nitritstickstoffes anzusehen, ebensowenig wird die assimilierende Pflanze ihren gesamten Nitratstickstoff erst bis zu Ammoniak reduzieren müssen, um ihn nachher wieder aufbauend zu verwerten.

Es ist bekanntlich anzunehmen, daß ein großer Teil unserer Kulturpflanzen ihren Stickstoffbedarf vorzugsweise durch die aus dem Boden aufgenommenen

¹⁾ Franzen, H., Sitzungsber. d. Heidelberg. Akad. d. Wissensch. Abhandl. 9. 1910.

salpetersauren Salze deckt, es können aber auch Ammoniumsalze den höheren Pflanzen als Stickstoff-Nahrung dienen. Für die Landwirtschaft ist es eine überaus wichtige Frage, welches von diesen beiden Düngemitteln vorzuziehen ist, und es sind in diesem Sinne eine große Anzahl von Arbeiten ausgeführt worden.

Es ist eine Tatsache, daß bei Nitrat-Düngung die Pflanzen bedeutend rascher und kräftiger zur Entwicklung gelangen, als bei Düngung mit Ammoniumsalzen. Die mit Ammoniumsalzen gedüngten Pflanzen holen aber schließlich die mit Nitrat gedüngten ein und es ist bei der Ernte der Unterschied so ziemlich ausgeglichen. Alle Forscher geben an, daß bei Düngung mit Ammoniumsalzen die Anwesenheit von Kalziumkarbonat unbedingt erforderlich ist. Der Grund liegt zum Teil darin, daß das als Düngungsmittel hauptsächlich verwendete Ammoniumsulfat ein physiologisch saures Salz ist, da durch den Verbrauch von Ammoniak ein Überschuß von Schwefelsäure entsteht, der schädlich wirkt.

Trotzdem wirken nach Pri an is ch n i k o w¹⁾ auch solche Ammoniumsalze, welche vom ersten Augenblick an keine physiologisch sauren Eigenschaften besitzen — wie z. B. Ammoniumnitrat — unter Umständen schädlich auf die Entwicklung der Pflanze. In neuester Zeit haben H. B. Hutchinson²⁾ und N. H. J. Miller²⁾ durch außerordentlich exakte Arbeiten gezeigt, daß Ammoniumsulfat in Gegenwart von Kalziumkarbonat von Weizen und Erbsen genau so gut assimiliert wird, wie Natriumnitrat; bei Weizen war die Ernte bei Ammoniumsulfat als Stickstoff-Nahrung sogar noch besser. Was zunächst die Anwesenheit von Kalziumkarbonat bei der Ammoniumsalzdüngung anbelangt, so möchte ich auf die, im ersten Kapitel ausführlich beschriebene Bildung von Kaliumkarbonat (Kalzium-Magnesiumkarbonat) aus Nitraten durch Lichtenergie verweisen. Nitrate bilden in Gegenwart von Formaldehyd durch Lichtenergie von selbst das überaus wichtige Alkali, während das bei Ammoniumsalzen nicht der Fall ist. Vielleicht ist dies der Grund, daß Pflanzen bei Ammoniumsalzdüngung nur dann gedeihen, wenn Kalziumkarbonat gleichzeitig anwesend ist.

Was nun die Tatsache anbetrifft, daß die mit Nitrat gedüngte Pflanze bedeutend kräftiger und rascher wächst als die mit Ammoniumsalzen gedüngte, so kann man folgende Schlüsse daraus ziehen:

Man neigt, wie schon erwähnt, heute der Anschauung zu, daß der Nitrat-Stickstoff in den assimilierenden Pflanzen bis zu Ammoniak reduziert werden müsse und dieses bzw. die daraus gebildeten Ammoniumsalze nun den Aufbau der Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen bewirkt. Wenn dies wirklich der Fall wäre, dann sollten Ammoniumsalze — in Gegenwart von Kalziumkarbonat — ein besseres Düngemittel für grüne Pflanzen sein als Nitrate, d. h. sie sollten wenigstens im Anfang, da sie doch den Stickstoff in der zu assimilierenden Form enthalten, bedeutend intensiver wirken als Nitrate. Es ist aber bekanntlich gerade das Gegenteil der Fall. Es macht vielmehr den Eindruck, als ob die Ammoniumsalze erst in eine günstigere Form für die Assimilation gebracht werden müßten, während es die Nitrate bereits sind.

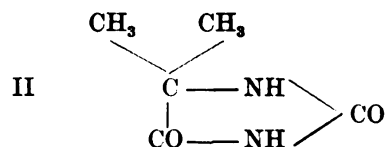
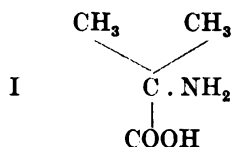
Diese wichtige Frage werde ich später noch ausführlicher behandeln und auf Grund experimenteller Ergebnisse eine Erklärung dafür zu geben suchen.

¹⁾ Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 26a. 1908.

²⁾ Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 30. 1911. p. 513.

Was die Blausäure anbetrifft, so glaube ich wohl, daß dieselbe in den Pflanzen eine wichtige Rolle spielen kann. Nach Euler ist die Bedeutung der Blausäure mehr in der Fähigkeit derselben, die Kohlenstoffketten von Aldehyden zu verlängern, zu suchen.

Die interessanten Arbeiten von Ciamician und Silber, über die Einwirkung von Licht auf ein Gemisch von Blausäure und Azeton, führen zu der Ansicht, daß vielleicht auch in den Pflanzen ähnliche Vorgänge sich abspielen. Bekanntlich fanden die beiden Forscher in der belichteten Lösung neben Oxy-Isobuttersäure und amorphen, gummiartigen Substanzen, Ammoniumoxalat-Amidoisobuttersäure (I) und Azetonylurat (II)



Für die Bildung der Aminosäuren in den Pflanzen, kommen noch zwei Hypothesen in Betracht, nämlich die von Erlenmeyer und Kunlin¹⁾ und die von Loew²⁾.

Erlenmeyer und Kunlin fanden, daß aus Ketonsäuren und Ammoniak Aminosäuren entstehen; so bildet sich z. B. aus Glyoxylsäure durch Ammoniak-Einwirkung Aminoessigsäure. Ob diese interessanten Synthesen eine physiologisch chemische Bedeutung haben, muß dahin gestellt bleiben.

Nach der Ansicht von Loew sollen sich Eiweißkörper in den Pflanzen aus Asparaginsäurealdehyd bilden. Drei Moleküle dieses Aldehyds bilden unter Austritt von Wasser ein intermediäres Produkt von der Formel $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_8\text{O}_4$ und 6 Mol. dieses Produktes geben unter Aufnahme von Schwefelwasserstoff den einfachsten Eiweißkörper von der Formel $\text{C}_{72}\text{H}_{112}\text{N}_{18}\text{SO}_2$. Die Loew'sche Hypothese, die schon genügend der Kritik unterworfen wurde, entbehrt leider jeder experimentellen Unterstützung.

Wenn ich nun zu meinen eigenen Arbeiten und Anschauungen gelange, so muß ich gleich vorausschicken, daß ich hier nicht eine abgeschlossene neue Hypothese über die Bildung der Vorstufen von Eiweißkörpern in den Pflanzen bringen kann, da das hierfür gesammelte, experimentelle Material noch zu gering ist und ich mich nicht gern allzuweit vom sicheren Boden der Tatsachen entfernen möchte.

Die hypothetische Behandlung physiologisch-chemischer Fragen ist überhaupt nie besonders fruchtbar gewesen; hier entscheidet fast immer nur das Experiment und aufrichtiges, begeistertes Schaffen.

Die Motive, welche mich dazu geführt haben, eine neue Hypothese in dieser überaus wichtigen physiologischen Streitfrage aufzustellen, entspringen den experimentellen Resultaten meiner lichtchemischen Versuche über Nitrat- und Nitritassimilation.

Dort habe ich, wie im ersten Kapitel dieser Arbeiten zu ersehen ist, festgestellt, daß aus Nitraten bzw. aus Nitriten durch Lichtenergie die reaktionsfähige Gruppe NOK (Nitrosyl) gebildet werden kann. Ich betrachte nun diese Gruppe NOK als erstes Stickstoffassimilationsprodukt des Pflanzenorganismus und knüpfe daran meine weiteren Schlüsse. Es drängt sich dann sofort die Frage auf, wie verwendet oder verarbeitet wohl die Pflanze

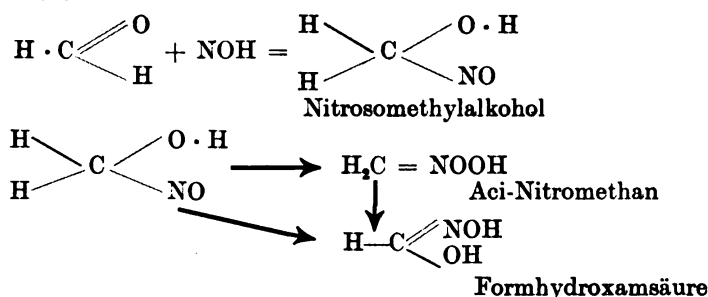
¹⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 35.

²⁾ Loew, O., Bull. Coll. Agric. Tokyo. Vol. 2. 1897.

diesen reaktionsfähigen Rest zum Aufbau stickstoffhaltiger, organischer Substanzen?

Wenn die Nitrat- bzw. Nitrit- und Kohlensäureassimilation zwei gekoppelte, lichtchemische Reaktionen sind, welche Vermutung ich im ersten Kapitel aufstellte, so ist daraus zu entnehmen, daß das erste Assimilationsprodukt des Kohlenstoffs, d. i. der Formaldehyd, mit dem ersten Assimilationsprodukt des Nitrastickstoffes, d. i. das Nitrosyl, in Reaktion treten wird. Es ist nun näher zu betrachten, wie Formaldehyd und Nitrosyl aufeinander einwirken können.

Nach meinem Erachten, ist die folgende Erklärung die einfachste und natürlichste:



Der Reaktionsverlauf ist folgendermaßen zu verstehen: Nitrosyl NOH (bzw. Nitrosylkalium NOK) lagert sich zunächst an Formaldehyd an und bildet als unfassbares Zwischenprodukt Nitrosomethylalkohol, welcher sich momentanin Azi-Nitromethan umlagert. Im Azi-Nitromethan-Molekül kann nun ebenfalls wieder eine Umlagerung stattfinden und Formhydroxamsäure gebildet werden, möglicherweise entsteht jene zum Teil auch direkt aus Nitrosomethylalkohol.

Die Annahme über die Bildung von Nitrosomethylalkohol und dessen Umlagerung wird unterstützt durch die Arbeiten von B a m b e r g e r und R ü s t über die „Umlagerung von Nitroparaffinen durch Säuren“.¹⁾

Diese beiden Chemiker erhielten bei Behandlung von Nitroäthylalkohol mit eisgekühlter Salzsäure, sowohl Nitrosoäthylalkohol als auch Azethydroxamsäure.

Den Nachweis der Bildung von Formhydroxamsäure in einem System $\text{KNO} + \text{HCOH}$ (bzw. CH_3OH) + Licht

habe ich schon im ersten Kapitel gegeben, es bleibt nur noch übrig — um den oben angegebenen Reaktionsverlauf experimentell zu stützen — das Azi-Nitromethan nachzuweisen.

Dasselbe in Substanz zu fassen, dürfte kaum gelingen, da es sehr reaktionsfähig ist und rasch, besonders in Gegenwart von Formaldehyd, in andere Verbindungen übergeht.

Wie ich schon im ersten Kapitel erwähnt habe, gibt eine belichtete formaldehydische Lösung mit Eisenchlorid zunächst eine braunrote Färbung (K o n o w a l o f f'sche Reaktion) und erst durch stärkere Bestrahlung die typische Formhydroxamsäure-Eisenfärbung, was darauf hindeuten könnte, daß zunächst Azinitromethan und dann erst Formhydroxamsäure gebildet wird. Diese Farbenreaktionen sind aber sehr unverläßlich, und es mußte nach besseren Beweisen gesucht werden. Das Verhalten einer formaldehydischen Nitromethanolösung im Licht und deren experimentelle Untersuchung

¹⁾ R ü s t, [Inaug.-Diss.] Zürich 1902.

konnte immerhin einen Aufschluß darüber geben, denn man sollte hier die gleichen Reaktionsprodukte erwarten, wie bei einer formaldehydischen Nitritlösung.

Es wurde zu diesem Zweck eine Nitromethanlösung mit Formaldehyd verdünnt und mit Quecksilberlicht bestrahlt. Schon nach kurzer Einwirkung des Lichtes trat eine Gasentwicklung auf, die nach und nach lebhafter wurde. Die Lösung gab mit Eisenchlorid zunächst eine braunrote Konowaloff'sche Reaktion, später trat mit diesem Reagens eine violette Färbung ein. Mit Jodkaliumstärkepapier und mit Spiegel'schem Reagens konnte man deutlich salpetrige Säure nachweisen. Diese Reaktionen stimmen also vollkommen überein mit den Reaktionen, die bei einer belichteten formaldehydischen Kaliumnitritlösung auftreten. Von besonderer Wichtigkeit war aber nun die Analyse des gebildeten Gases. Dasselbe wurde wieder von Herrn Fuller in lebenswürdiger Weise untersucht. Es ergab sich, daß dasselbe aus Stickoxydul, Wasserstoff, Kohlensäure und Kohlenmonoxyd besteht, also in seiner qualitativen Zusammensetzung übereinstimmt mit dem Gas, welches eine formaldehydische Kaliumnitritlösung im Licht bildet.

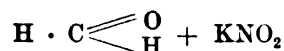
Dieser experimentelle Befund läßt mich vermuten, daß auch in einer belichteten, formaldehydischen Kaliumnitritlösung genau wie in einer formaldehydischen Nitromethanlösung, das gebildete Stickoxydul ein Zersetzungsprodukt des intermediär entstandenen Azi-Nitromethans ist.

Die belichtete, formaldehydische Nitromethanlösung gab beim Stehen im Exsikkator weiße Krystalle, die als Jsonitrobutylglyzerin identifiziert wurden, woraus man schließen kann, daß im Licht aus Nitromethan zunächst Azi-Nitromethan gebildet wird, welches zum Teil mit dem überschüssigen Formaldehyd im Sinne der Henry'schen Synthese reagiert, zum Teil in Stickoxydul und Kohlensäure zerlegt wird.

In einer belichteten, formaldehydischen Nitromethanlösung entsteht aber ferner, genau wie in einer formaldehydischen Kaliumnitritlösung, naszierender Wasserstoff bis zu 35 Proz., der seine Bildung höchstwahrscheinlich auch hier dem oxydativen Zerfall des Formaldehydes verdankt. Der hierfür nötige aktive Sauerstoff dürfte durch Abspaltung aus dem Azi-Nitromethan Molekül entstanden sein, denn Nitromethan scheidet schon im Tageslicht aus Manganazetatlösung Mangansuperoxyd ab. Die auftretende Kohlensäure, die in einer belichteten formaldehydischen Nitromethanlösung bis zu 25 Proz. ausmacht, könnte, wie schon oben angedeutet wurde, ebenfalls ein Zerfallsprodukt des Azi-Nitromethans sein; vielleicht ist auch die Bildung von Kaliumkarbonat in einer belichteten formaldehydischen Kaliumnitrat bzw. Nitritlösung auf diesem Wege zu erklären. Nef¹⁾ hat bekanntlich nachgewiesen, daß verdünnte, wässrige Lösungen des Natriumsalzes von Nitromethan leicht in Natriumkarbonat, Natriumnitrit und andere Produkte zerfallen.

In einer belichteten formaldehydischen Nitromethanlösung entsteht, wie aus der Farbenreaktion mit Eisenchlorid zu entnehmen ist, genau wie in einer belichteten Kaliumnitritlösung Formhydroxamsäure; das in diesen belichteten Lösungen nachweisbare Kohlenmonoxyd, verdankt seine Entstehung höchstwahrscheinlich dem Zerfall dieser Säure in CO und NH₂OH.

Der Verlauf der Lichtreaktion

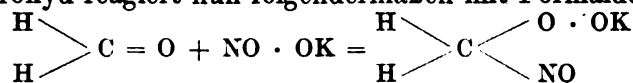


¹⁾ Ann. 280. p. 263.

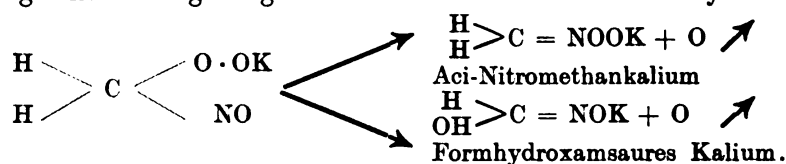
ist natürlich noch auf andere Weise als in der eben ausführlich dargestellten erklärbar, man kommt jedoch schließlich immer zu den gleichen Endprodukten. Schließt man sich z. B. den Anschauungen von Bruehl¹⁾, Klason²⁾, Carlson³⁾ und Gutmann⁴⁾ an, die die Salpetersäure bzw. die Nitrate als Peroxyde auffassen, so könnte man auch folgende Reaktionsgleichung aufstellen. Kaliumnitrat lagert sich zunächst im Licht in die Peroxydform um



und dieses Peroxyd reagiert nun folgendermaßen mit Formaldehyd



Der entstandene Pernitrosomethylalkohol zerfällt unter Sauerstoffabspaltung und Umlagerung in Azinitromethan und Formhydroxamsäure.



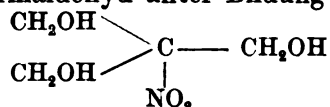
Die Bildung von Azi-Nitromethan in einem System

Nitrat bzw. Nitrit + Formaldehyd + Licht

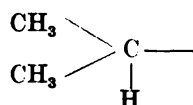
ist, wie man aus meinen bisherigen experimentellen Versuchen entnehmen kann, noch nicht vollkommen sichergestellt; durch weitere Arbeiten hoffe ich jedoch einen tieferen Einblick in den Verlauf dieser biologisch-chemisch interessanten Lichtreaktion zu gewinnen. Um mir ein bestimmtes Arbeitsgebiet zu umgrenzen, knüpfe ich schon hier einige hypothetische Betrachtungen über die Bildung der Vorstufen von Eiweißkörpern in den Pflanzen an und stütze mich dabei auf meine experimentellen Untersuchungen über Nitrat- und Nitrit-Assimilation.

Nimmt man also als Grundsubstanz, ich möchte sagen als erstes Assimilationsprodukt der vereinigten Nitrat- bzw. Nitrit- und Kohlensäureassimilation Azi-Nitromethan an, so eröffnen sich mit einem Schlag viele neue Wege, die alle zu organischen Stickstoffverbindungen führen, die für die Eiweiß-Synthese in der Pflanze Verwendung finden könnten.

Nitromethan reagiert bekanntlich in Gegenwart von Kaliumkarbonat nach Henry⁵⁾ mit Formaldehyd unter Bildung von Jsonitrobutylglyzerin:



Das Jsonitrobutylglyzerin enthält bereits das Kohlenstoffskelett der Gruppe



die in der Natur eine so überaus wichtige Rolle spielt.

¹⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 31. p. 1354.

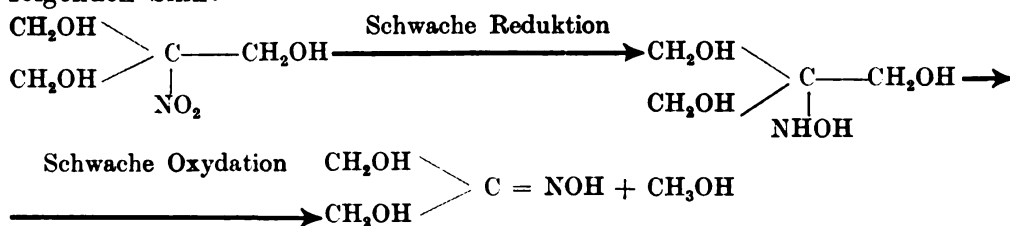
²⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 39. p. 2752.

³⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 40. p. 4191.

⁴⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 41. p. 2052.

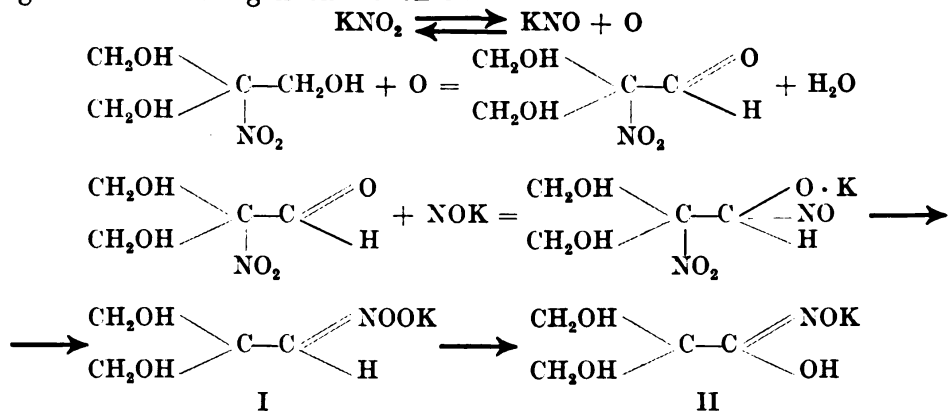
⁵⁾ Compt. rend. T. 120. p. 1266; T. 121. p. 216; Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 38. p. 2027.

Aus den schönen Arbeiten von P i l o t y¹⁾ wissen wir, daß das Jsonitrobutylglycerin durch schwache Reduktion und nachherige Oxydation leicht in Dioxyazetonoxim überführt werden kann. Die Reaktion verläuft im folgenden Sinn:



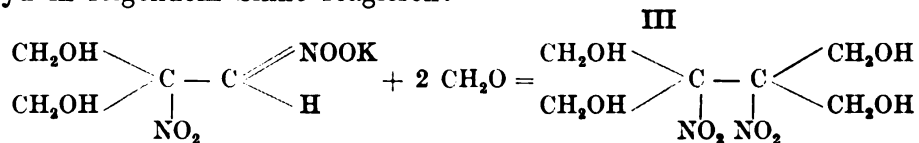
Die Bildung von Dioxyazetonoxim aus Jsonitrobutylglyzerin wäre auch in der Pflanze sehr leicht denkbar, da ja bekanntlich abwechselnde Reduktions- und Oxydationsvorgänge bei physiologisch-chemischen Prozessen eine große Rolle spielen.

Sowohl das Jsonitrobutylglycerin als auch das Dioxyazetonoxim können aber, wie im ersten Kapitel ausführlich dargelegt worden ist, in Gegenwart von Kaliumnitrit und Licht weitere Veränderungen erleiden, indem die Methylolgruppen in bekannter Weise reagieren, sodaß z. B. aus Jsonitrobutylglycerin — angenommen, daß nur eine Methylolgruppe mit Kaliumnitrit — folgende Verbindungen entstehen müßten:

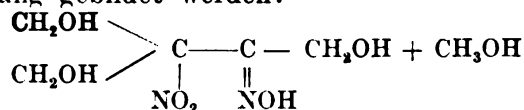


Daß auch die beiden anderen Methylolgruppen in gleicher Weise reagieren können, ist chemisch sehr gut denkbar.

Die Verbindung I sollte nun im Sinne der H e n r y schen²⁾ Synthese, die aussagt, daß so viele Methylolgruppen als Wasserstoffe am gleichen Kohlenstoffatom wie die Nitrogruppe haften, eingeführt werden können, mit Formaldehyd in folgendem Sinne reagieren:



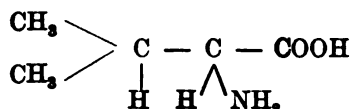
Nimmt man in der Verbindung III, analog der Piloty'schen Reaktion bei Jsonitrobutylglycerin, eine Abspaltung von Methylalkohol an, so würde folgende Verbindung gebildet werden:



¹⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 30. p. 1656.

²⁾ l. c.

Die Verbindung IV enthält aber das Kohlenstoffskelett der i. Amino-valeriansäure (Valin)



Man kann sich chemisch auch leicht vorstellen, daß die Verbindung IV in Valin überführt werden könnte.

Durch Reduktion müßten die Nitro- und die Oximgruppe, aus Analogie Fällen zu schließen, in die Aminogruppen übergehen.

Mit Hilfe der eben angeführten drei Hauptreaktionen d. s.

1. Bildung einer Azi-Nitrogruppe aus einer Methylolgruppe, bedingt durch die Gegenwart von Nitrat bzw. Nitrit und Lichtenergie,
2. Einwirkung von Formaldehyd auf die gebildete Azi-Nitroverbindung im Sinne der H e n r y schen Synthese und
3. Abspaltung von Methylalkohol analog der Bildung von Dioxyazetonoxim aus Isonitrobutylglyzerin nach P i l o t y ,

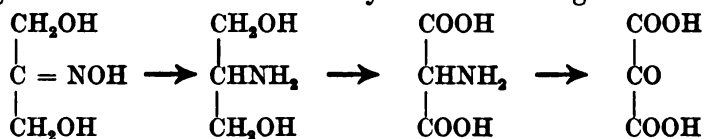
lassen sich sämtliche Kohlenstoffskelette der bekannten Aminosäuren, ausgenommen der ringförmigen (Histidin, Prolin und Tryptophan), darstellen.

Man kann sich überhaupt die Bildung von hochmolekularen, stickstoffreichen Verbindungen in den Pflanzen auf diesem hier angedeuteten Wege so vorstellen, daß die aus Nitromethan und Formaldehyd im Isonitrobutylglyzerin entstehenden Methylolgruppen immer wieder mit Kaliumnitrit im Licht in der von mir aufgefundenen Weise und gleichzeitig mit Formaldehyd im Sinne der H e n r y schen Synthese reagieren.

Die Bildung von wichtigen Pflanzensäuren kann auf diesem Wege ebenfalls ohne Zwang erklärt werden:

Aus Dioxyazetonoxim könnte zunächst durch Reduktion Dioxyazetonamid gebildet werden, die Methylolgruppen dagegen könnten durch Oxydation in Karboxylgruppen übergehen.

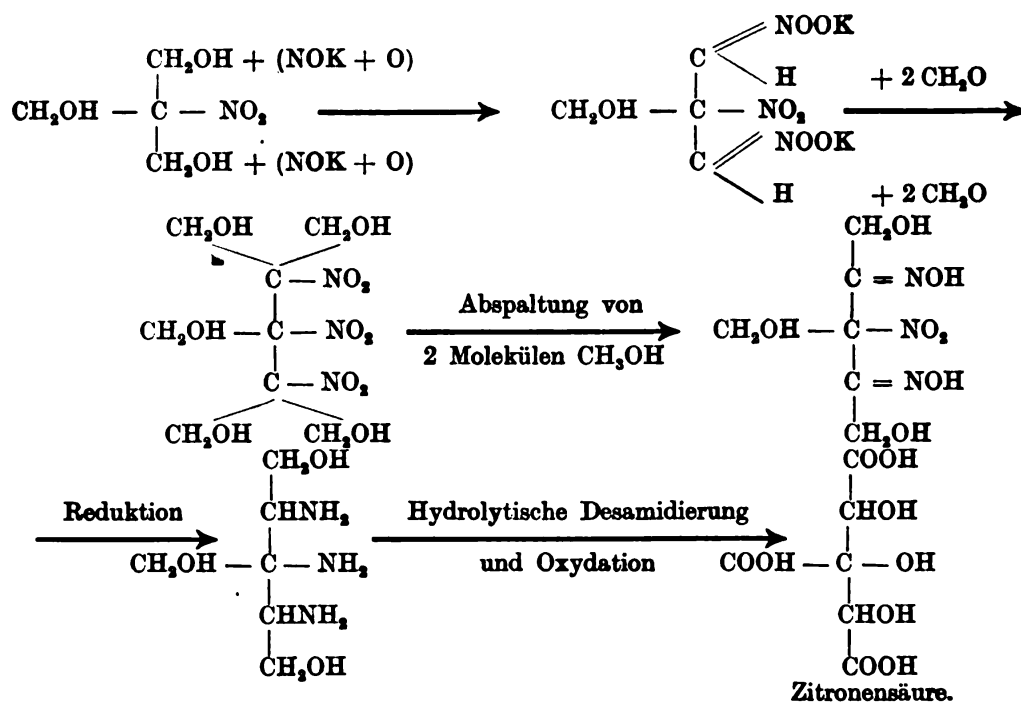
Nun hat O t t o N e u b a u e r¹⁾ in seiner bedeutungsvollen Arbeit „Über den Abbau von Aminosäuren im gesunden und kranken Organismus,“ gezeigt, daß aus einer Amidosäure als nächstes Abbauprodukt die entsprechende Ketonsäure entsteht. Analog zu diesem experimentellen Befund wäre somit die Bildung von Mesoxalsäure aus Dioxyazetonoxim folgendermaßen denkbar:



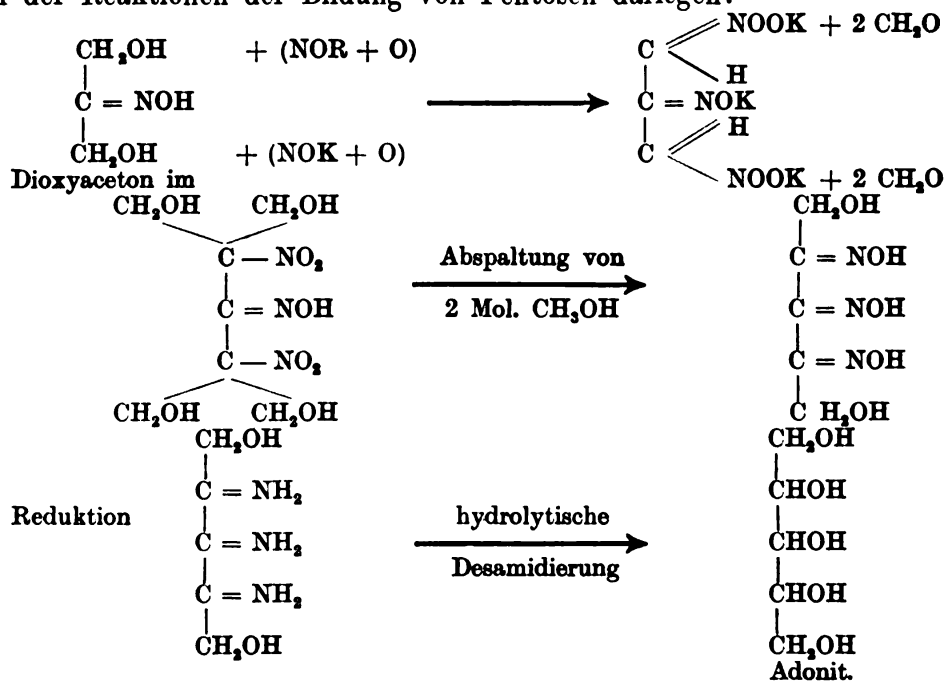
Die Mesoxalsäure ist in chemischer Hinsicht sowohl der Oxalsäure als auch der Glyoxylsäure verwandt. Die wässrigen Lösungen der Mesoxalsäure zerfallen in der Wärme in Kohlenoxyd und Oxalsäure, in der Hitze unter Kohlensäure-Abspaltung in Glyoxylsäure, die ebenfalls unter den Pflanzensäuren aufgefunden worden ist. Glyoxylsäure kann ihrerseits wieder leicht in Glycolsäure und Oxalsäure aufgespalten werden.

Eine andere sehr wichtige Pflanzensäure mit verzweigtem Kohlenstoffskelett ist die Zitronensäure. Dieselbe könnte mit Hilfe der schon einigemale angeführten drei Hauptreaktionen auf folgendem natürlichen Wege gebildet werden:

¹⁾ Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 95. 1909. p. 211—256.



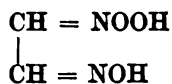
Auch die Bildung von Pentosen und Hexosen könnte man sich auf diesem Wege erklären, und will ich hier nur an einem Beispiel den vermutlichen Verlauf der Reaktionen der Bildung von Pentosen darlegen:



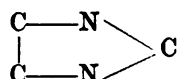
Mit der Annahme der Bildung von Aci-Nitromethan in dem Pflanzenorganismus ist auch die Möglichkeit der Bildung von Methazonsäure in natürlicher Weise damit verknüpft.

An die Bildung dieser Säure könnte man nun wieder verschiedene hypothetische Betrachtungen anreihen, die ich jedoch hier unterlassen will, da sie noch jeder experimentellen Grundlage entbehren.

Anknüpfend an die von M e i s t e r¹⁾ sicher gestellte Formel der Methazonsäure



möchte ich nur darauf hinweisen, daß vielleicht die Bildung des Imidazolringes



mit derselben genetisch verknüpft ist.

Ich habe hier in ganz kurzen Zügen eine neue Hypothese über die Bildung von Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen entwickelt, unter der Voraussetzung, daß der von der Pflanze aus dem Erdboden aufgenommene Stickstoff in Form von Nitraten bzw. Nitriten vorhanden ist. Es liegt nun die Frage nahe, ob denn diese Hypothese auch für den Fall der Ammoniak-(Ammonium-)Assimilation von Bedeutung sein kann.

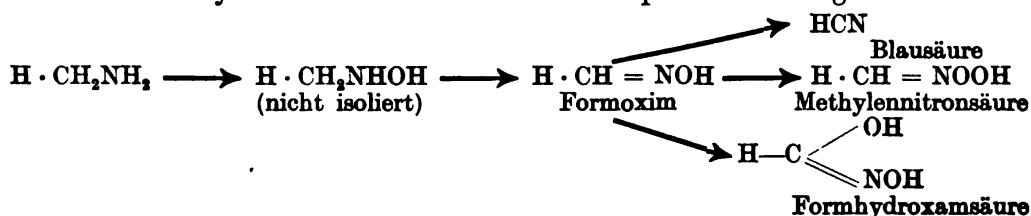
Diese Frage läßt sich immerhin diskutieren, wenn man die schönen Arbeiten B a m b e r g e r s und seiner Schüler über die Oxydation von Aminen und auch von Ammoniak mit C a r o s c h e r Säure in Betracht zieht.

B a m b e r g e r und S e l i g m a n n²⁾ haben versucht, Ammoniak mit Sulfomonopersäure zu Nitrosyl NOH ($\text{HN} \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$) Dioxyammoniak) zu oxydieren.

Um das eventuell gebildete Nitrosyl fassen zu können, oxydierten sie das Ammoniak in Gegenwart von Acetaldehyd, und konnten in der Tat Acethydroxamsäure nachweisen.

Damit ist allerdings, wie die beiden Forscher auch bemerken, die Oxydation des Ammoniak zu Nitrosyl noch nicht erwiesen, da zunächst Aldehydammoniak gebildet werden könnte, welches weiter zu Acethydroxamsäure verbrannt wird.

Nach B a m b e r g e r und S e l i g m a n n verläuft die Oxydation von z. B. Methylamin mit neutraler Sulfomonopersäure in folgendem Sinne:



Eine Oxydation von Ammoniak mit C a r o s c h e r Säure in Gegenwart von Formaldehyd könnte man sich im obigen Sinne verlaufend denken, d. h. es wäre dabei ebenfalls die Bildung von Methylnitronsäure (Aci-Nitromethan) und Formhydroxamsäure zu erwarten.

Diese Annahme wird durch den Versuch von A n g e l i bekräftigt, denn er wies mit Sicherheit nach, daß durch Oxydation einer wässrigen Hydroxylaminlösung mit C a r o s c h e r Säure Dioxyammoniak gebildet wird.

Wir ersehen daraus, daß durch Oxydation von Ammoniak mit Peroxyden in Gegenwart von Formaldehyd ebenfalls die Bildung von Aci-nitromethan denkbar ist.

¹⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 40. p. 3435.

²⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 35. p. 4299.

Mit dieser Annahme aber ist auch für die Ammoniak-(Ammonium-) Assimilation die neue Hypothese der Bildung von Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen anwendbar, denn bekanntlich hat Schoenbein¹⁾ schon die Existenz oxydierender Enzyme in den Pflanzen angenommen, während durch die Arbeiten von Bach, Chodat²⁾ und anderen Forschern die Anwesenheit von Peroxydsauerstoff im Pflanzenorganismus mit Sicherheit erbracht worden ist.

Die Oxydation des Ammoniak zu Aci-Nitromethan in Gegenwart von Formaldehyd und die Oxydation des Formaldehyds zu Wasserstoff und Ameisensäure könnten jedoch auch lichtchemische Prozesse sein, da bekanntlich Wasser durch ultraviolettes Licht zu Wasserstoffsuperoxyd oxydiert wird, welches wiederum in Wasser und aktiven Sauerstoff zerfällt.

Nach den Versuchen von Daniel Berthelot und Henry Gaudichon³⁾ ist übrigens Nitrifikation von Ammoniumsalzen durch ultraviolette Strahlen bereits experimentell nachgewiesen worden, und es ist deshalb naheliegend, anzunehmen, daß in Gegenwart von Formaldehyd Aci-Nitromethan auch auf diesem Wege gebildet werden könnte.

Sollte es einmal gelingen, Aci-Nitromethan in Pflanzen durch Reaktionen sicher nachzuweisen, so wäre meine neue Hypothese der Bildung von Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen stark gestützt; immerhin dürfte sich dieser Nachweis infolge der großen Reaktionsfähigkeit dieser chemischen Verbindung sehr schwierig gestalten.

Nachdruck verboten.

Zum Parasitismus von *Nectria* und *Fusicladium*.

Von Dr. Ernst Voges.

Mit 2 Fig. im Text.

I.

Höchst auffällig trat im Frühjahr 1911 die Zweigdürre der Holzgewächse in meiner Gegend auf. Zum Teil hatten die Zweigtriebe noch normale Blätter hervorgebracht, die mit ihnen abstarben. So bei Apfel- und Birnbäumen, bei Pfirsich und Schattenmorelle sowie dem Zierstrauch *Prunus triloba*. Die einjährigen Triebe gesunder, kräftiger Apfelbäume besaßen meist sogenannte Brandstellen, abgestorbene, kupferfarbige Rindenpartien, blasig aufgetrieben oder eingefallen, von ungleich großem Umfange und besonders in der lockergewebigen Umgebung der Knospen. Und unterhalb solcher Stellen war der Rinden- wie Holzkörper der äußerlich gesund erscheinenden Zweige von dem Myzel des *Fusarium Wilkommii* Lindau, der Konidienform der *Nectria ditissima* Tulas. durchsetzt. Die Fruchtlager finden sich, wie R. Hartig⁴⁾ bemerkt „nur in denjenigen Rindenteilen, die seit dem letzten Jahre getötet wurden, mithin in der Peripherie der Krebsstelle“.

Allein, man trifft sie nicht nur an den ausgesprochenen Krebswunden sowie an den Brandstellen, sondern auch an anderen Rindenstellen, die weder Krebs, noch Brand aufweisen. So war es an vorjährigen Zweigtrieben ver-

¹⁾ Pogg. Ann. Bd. 47. 1846. p. 97, 233.

²⁾ Bach u. Chodat, Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 36 und fortlaufend.

³⁾ l. l.

⁴⁾ Hartig, Robert, Lehrbuch d. Pflanzenkrankheiten. Berlin 1900. p. 82.

schiedener Apfelsorten in meinem Garten. Und zwar erschienen die Fruchtlager des *Fusarium Willkommii* in der Gesellschaft des *Fusicladium dendriticum* F., sodaß man nicht entscheiden konnte, wer von ihnen der erste am Platze gewesen. Beide Pilze waren im Mai in voller Fruktifikation.

Wenn Hartig ferner meint, daß es wahrscheinlich sei, daß das Mycel der *Nectria ditissima* im Holze wandert und stellenweise nach außen tretend, Krebsstellen erzeugt, so ist das um so wahrscheinlicher, als das Mycel ihrer Konidienform ja tatsächlich im Holze frischer Zweigtriebe wuchert. Über das Vorkommen des Mycels eines Gattungsverwandten, der *Nectria cinnabarina* Fr., bzw. ihrer Konidienform, *Tubercularia vulgaris* T., wird anderseits von mehreren Forschern angegeben, daß es ebenfalls im Holze vorkomme, während C. Wehmer kein Mycel im Holze gefunden hat, wohl aber zeige sich die Wucherung des Mycels in der kambialen Region und in der Nähe der größeren Lufträume zwischen den Bastbündeln, und die Fäden wucherten ausschließlich interzellulär¹⁾. — Die widersprechenden Angaben der Autoren, wonach von den einen behauptet wird, daß das Mycel des Pilzes nur im Holzkörper, von den anderen, daß es nur im Rindenkörper auftrete, finden insofern ihre Aufklärung, als tatsächlich der Pilz sowohl im Rinden- wie im Holzgewebe erscheint. Das zeigten mir unverkennbar die Schnitte durch die abgestorbenen mit den Fruchtkörpern der *Tubercularia vulgaris* besetzten Zweige von *Ribes rubrum* und *Prunus triloba*. Ebenso trifft es nicht zu, daß das Mycel nur interzellulär wuchert. Es kommt zwischen, wie in den Zellen vor.

Nectria cinnabarina bzw. ihre Konidienform *Tubercularia vulgaris* Fr. ist bekanntlich einer der verbreitetsten Saprophyten, den man bei feuchter Witterung auf vermodernden Zweigen und Holzstücken überall antrifft. Vergleicht man die den verschiedensten Substraten entnommenen Pilzformen mit einander nach ihrem morphologischen Charakter, so ist zwischen ihnen kein Unterschied zu finden. Wenn J. Behrens²⁾ meint, daß „unter den auf abgestorbenen Zweigen erscheinenden roten Polstern, die man gewöhnlich mit *Nectria cinnabarina* identifiziert, sich wahrscheinlich mehrere Spezies verbergen, geht auch aus den Erfahrungen Wehmers hervor, der an Ahorn, Linden und Ulmen eine ausschließlich die Rinde bewohnende *Nectria cinnabarina* resp. *Tubercularia vulgaris* als Ursache des Absterbens von Zweigen und Ästen auffand.“ — so bemerkt hierzu Wehmer³⁾: „ich stimme darin mit Behrens nicht ganz überein, daß ich (wie dieser) es offen lasse, es möchten verschiedene der bisher erwähnten, auf differenten Substraten vorkommende Stromata verschiedenen *Nectria*-Spezies angehören. Es scheinen mir, so bemerkt Wehmer ferner, auch die Mayrschen Beobachtungen nicht gerade unbedingt gegen die Zusammengehörigkeit der verschiedenen Pilze zu sprechen; denn es bedürfte doch der Erklärung, weshalb Pilzfäden, welche nachweislich in die Rinde einzudringen und diese abzutöten die Fähigkeit haben, hierzu nun gerade immer den Weg durch den Holzkörper nehmen sollen“.

¹⁾ Nach dem Zitat bei Sorauer-Lindau, Handb. d. Pflanzenkrankheiten Bd. 2. Berlin 1900. p. 207.

²⁾ Behrens, J., Ein bemerkenswertes Vorkommen von *Nectria cinnabarina*. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. 5. 1895. p. 195.)

³⁾ Wehmer, C., Beiträge zum Parasitismus der *Nectria cinnabarina*. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 5. 1895. p. 274.)

Wenn schon das angeblich ungleiche Vorkommen des sonst gleichartigen Pilzes, einmal in der Rinde, das andere Mal im Holzkörper, unmöglich als Artunterschied gelten kann, so möchte ich anderseits nach meinen Befunden annehmen, daß man den Pilz, wo er im Rindengewebe erscheint, auch im Holzkörper finden wird und umgekehrt. Zur Aufstellung besonderer Arten liegt somit kein Grund vor. Es wird nun in Übereinstimmung mit der Behauptung, daß unser Pilz nur vom Holzkörper aus das Rindengewebe heimsuche, weiter gesagt, daß seine Sporen auch nur auf dem bloßgelegten Holzkörper auskeimten. „Es ist interessant“, so heißt es bei Hartig¹⁾, „daß dieser Pilz dem lebenden Kambium und Rindengewebe nichts anzuhaben vermag, vielmehr erst dann sich in diesem entwickelt, wenn dasselbe entweder durch Frost, oder dadurch getötet wurde, daß der Holzkörper von innen aus durch das Mycel des Parasiten zum Abtrocknen gebracht wurde.“

Soweit es sich um das Verhalten der Sporen der Konidienform des Pilzes handelt, vermag ich diese Angabe nicht zu bestätigen nach meinen Impfversuchen. Mit Ascosporen konnte ich bisher keine Versuche anstellen, da bekanntlich die Schlauchform des Pilzes nur selten zu haben ist. Auf die Keimungsart der Sporen und auf die Wachstumsweise des Mycels der *Tubercularia vulgaris* trifft indeß die obige Behauptung nicht zu. Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß die Konidien im Wasser keimten, wenn auch nur vereinzelt, brachte ich am 24. Mai in das verletzte Oberhautgewebe diesjähriger und vorjähriger abgeschnittener und in der Petrischale feucht gehaltener Prunuszweige die im Wasser gelösten Fruchtkörperstückchen von *Tubercularia vulgaris*. Am 29. Mai und 5. Juni untersuchte ich sodann an Längs- und Querschnitten die Impfwunde im Rindengewebe. Und da stellte sich heraus, daß eine große Anzahl Sporen kräftige Keimschläuche getrieben hatte. Die Hyphen waren in das Collenchym und primäre Rindengewebe eingedrungen, inter- wie intrazellulär, was zumal bei Methylenpräparaten hervortrat. Ebenso ließen sich die Hyphen in den Markstrahlzellen und in den Gefäßen nachweisen. Bei diesen Impfversuchen an abgeschnittenen Zweigen ist allerdings eins zu beachten: das passive Verhalten des Nährwirtes gegenüber seinem Parasiten! Der auf das verletzte Rindengewebe übertragene Pilz konnte hier seine Keimschläuche treiben und von den verletzten Zellen in die benachbarten unverletzten eindringen, da seinem Eindringen kein Widerstand geboten wurde durch Bildung eines Wundkorkgewebes. Denn das Rindengewebe abgeschnittener Zweige vermag keine neuen Gewebe zu bilden!

Anders verhält sich nun die Sache bei den Impfungen an Zweigen, welche dem Strauche und Bäumen verbleiben. Hier treiben die Konidien in der Rindenwunde zwar Keimschläuche, die in den abgestorbenen Gewebemassen wuchern. Aber indem das gesunde Rindengewebe nach etwa zwei bis drei Wochen ein Wundkorkgewebe bildet, das sich zwischen das gesunde und das abgestorbene Gewebe schiebt, wird dem Pilze der weitere Zugang verwehrt, wenn er eben nicht dieser Neubildung des Periderms durch ein rasches Wachstum zuvorgekommen ist und durch das Abtöten des Rindengewebes die Neubildung des Verschlussgewebes vereitelt. Und das kann geschehen, vornehmlich bei Querschnitten wie weitere Impfversuche dartaten. Am 29. September hatte ich nämlich diesjährige Zweigtriebe von *Prunus triloba* entspitzt und die Wundfläche mit Stückchen der Fruchtlager der *Tuber-*

¹⁾ A. a. O. p. 85.

cularia vulgaris belegt. Als ich nach vier Wochen an Längsschnitten die Impfwunde untersuchte, zeigte sich, daß die Konidien sowohl auf dem Rinden- wie Holzgewebe gekeimt hatten. Die Keimschläuche ließen sich von ihrer Ursprungsstätte auf der Wundoberfläche, von den abgestorbenen Gewebelementen des Rinden- wie Holzkörpers nach abwärts deutlich verfolgen. Zahlreiche Sporen, selbst solche, die auf den verletzten Markstrahlzellen lagen, also mitten im Nährsubstrat, hatten indeß keine Keimschläuche getrieben. Aber immerhin waren der Fälle genug, um im Gegensatz zu der Behauptung von Mayr und Hartig sicher feststellen zu können, daß die Konidien unseres Pilzes sehr wohl im Rindengewebe keimen und ihre Keimschläuche inter- und intrazellulär in die Zellen des Rindenparenchyms treiben. Ebenso häufig ließ sich erkennen, wie die Keimschläuche in die Markstrahlzellen und in die Gefäße traten, wo sie besonders häufig erschienen und von hier ihren Weg in die angrenzenden Holzparenchymzellen nahmen. Daß die Verbreitung des Pilzes in den Impfwunden des Holzkörpers am schnellsten vor sich geht, davon konnte ich mich ebenfalls überzeugen.

Es ist nun von verschiedenen Autoren die Frage aufgeworfen: wie gelangt der Pilz in den Zweig, wie vollzieht sich in der freien Natur die Infektion? Der Pilz selbst ist nicht im Stande, sich Eingang in den unverletzten Zweig zu verschaffen. Es müssen schon Zweigverletzungen vorhanden sein, die ihm den Zugang offen legen. Daß durch Wurzelverletzungen eine Infektion angebahnt wird, wie angenommen ist, das scheint mir unwahrscheinlich. Diesen umständlichen Weg von der Wurzel bis zum Zweige braucht übrigens der Pilz gar nicht einzuschlagen zur Besitzergreifung seines Nährwirts. Er findet schon oberirdisch an den Zweigen in Verletzungen aller Art die nötigen Eingangspforten. Abgeschnittene, zerbrochene, durch Hagel zerschlagene oder durch Frost im Rindenkörper zerrissene Zweige sind fast stets vorhanden, wozu dann noch die häufigen Verletzungen durch Tiere kommen, besonders durch die Schnabelhiebe der Vögel. Oft genug trifft man im Frühjahr *Pru-nus* zweige mit vollständig zerfetzten Knospen an. Das ist das Zerstörungswerk der Sperlinge und anderer insektenfressenden Vögel, von denen bei ihrer Suche nach Insekten überhaupt wohl die meisten geringeren Zweigverletzungen herrühren, die hinterher den Pilzen die Ansiedelung erleichtern. Hiernach ist gewiß anzunehmen, daß die Sporen der *Nectria cinnabarina* bzw. der *Tubercularia vulgaris* da, wo sie in der Zweigrinde oder im Holze einmal Eingang gefunden nach einer vorausgegangenen Verletzung jener Gewebsteile, daß sie da auch keimen und der Pilz sich ansiedelt, wenn sonst die Bedingungen darnach sind. Daß er zumeist in den Interzellularen und in den Gefäßen angetroffen wird, ist erklärlich, da er in diesen zugleich sauerstoffreichen Räumen bei seinem Vordringen keinen Widerstand findet.

Zu den Untersuchungen R. Beck über *Nectria cinnabarina* bemerkt sodann G. Lindau¹⁾, daß Beck neben *Tubercularia*-Polstern auch sichelförmige oder spindelförmige *Fusarium*-Konidien beobachtet hat, was aber noch näher zu untersuchen sein dürfte. — Gewiß wohl mit Recht; denn es ist nicht anzunehmen, daß in dem Entwicklungszyklus der *N. cinnabarina* noch eine besondere *Fusarium*form vorkommt. Es ist sehr wahrscheinlich, daß Beck das *Fusarium Willkommii*, die Konidienform der *Nectria ditissima*, vor

¹⁾ A. a. O. p. 208.

sich gehabt hat, die fast eben so häufig ist wie die *Tubercularia vulgaris*. Auch bei *Prunus triloba* trifft man die Konidienform beider *Nectria*-Arten an. Wie es denn überhaupt nichts Seltenes ist, mehrere parasitäre Pilze oft örtlich und zeitlich neben einander zu finden in Fruktifikation, wie wir das vorhin bei *Fusarium Willkommii* und *Fusicladium dendriticum* sahen. Das Mycel jenes Pilzes fand ich in der Rinde und im Holzkörper der noch frisch erscheinenden Zweige von *Prunus triloba*, die im Mai mit vollem Laube plötzlich abstarben. Der Parasit hatte seinen Hauptsitz in der cambialen Region, zwischen Rinden- und Holzteil, die durch sein in einer schleimigen Gummimasse wucherndes Mycel von einander getrieben waren. Aber auch das Holz, zumal die Gefäße wurden von den Hyphen des *Fusarium* durchzogen. In den Zellen der Rindengewebe verliefen sie vorzugsweise längs deren Innenwände, was meist bei dem intrazellulär auftretenden Pilzmycel der Fall ist. Die Gefäße waren vielfach an der Grenze des losgelösten Rindenteils mit Wundgummi ausgefüllt.

Die Wundgummibildung sowie die Thyllenbildung gilt bekanntlich als Reaktion und als Schutzmittel gegen weitere Gefährdungen bei Störungen im Holzgewebekörper. Am reichsten erscheint das wesentlich wohl durch die Umbildung der Stärke entstandene Ausscheidungsprodukt der Holzparenchymzellen bei Verletzungen im Holzkörper. Eine auf die Einwirkung des Pilzparasiten zurückführende Thyllenbildung habe ich jedoch nicht wahrgenommen. Wurden Stücke des mycelhaltigen Prunuszweiges einige Tage unter einer feucht gehaltenen Glasglocke belassen, so entstanden an den Schnittflächen die Fruchtkörper des *Fusarium*-Insassen mit reicher Sporenbildung. Bei den verdorrten Zweigen saßen die Fruchtpolster in den Rindenrissen und Lentizellen. An den absterbenden Prunuszweigen ließen sich in den meisten Fällen weder Krebs- noch Brandstellen auffinden. Eine Bräunung der Gewebe war weitab von dem Sitze des Mycels vor sich gegangen in Zweigteilen, die äußerlich noch vollständig gesund erschienen mit ihren strotzend grünen Blättern.

II.

Während die besprochenen *Nectria*formen als sog. Wundparasiten gelten, ist das *Fusicladium* als echter Parasit anzusehen, der sich selbst den Zugang zu seinem Nährwirt verschafft und auch Zweige angreift. Von den Birnzweigen wissen wir, besonders durch P. Sorauer, daß sie durch die schmarotzende Tätigkeit des *Fusicladium pirinum* Fuck. schorfig werden und schließlich verdorren. Es können freilich auch die schorfigen Rindenstellen abgestoßen werden und ausheilen, sodaß der Zweig erhalten bleibt. Weniger bekannt sind die ähnlichen Vorkommnisse an den jungen Trieben des Apfelbaumes. Es sagt P. Sorauer¹⁾ darüber: Während der Apfelschorf vorzugsweise auf Blättern und Früchten und seltener auf Zweigen erscheint, sehen wir bei den Birnen die Zweigerkrankung in den Vordergrund treten und nur in feuchten Jahren stärkere Blatt- und Fruchtbeschädigung sich einstellen. Und R. Aderhold²⁾ äußert sich über den Fusikladienbefall der jungen Apfeltriebe, daß solche Vorkommnisse

¹⁾ Sorauer, Paul, Schutz der Obstbäume gegen Krankheiten. Stuttgart 1900. p. 90.

²⁾ Aderhold, F., Über die Fusicladien unserer Obstbäume. (Landw. Jahrb. Bd. 25. 1896 u. Bd. 29. 1900.)

entweder seltene Ausnahmen sein dürften, oder auf so unbedeutende Vegetationen zurückzuführen seien, daß ihnen keinerlei praktische Bedeutung zukomme und sie insbesondere gar nicht entfernt etwa dem Vorkommen des Birnpilzes auf den Trieben zu vergleichen sein. Und J. Eriksson¹⁾ macht die Bemerkung: „daß sich auch der Apfelschorfpilz bisweilen auf den am meisten empfänglichen Apfelsorten an dem Stammteile des Jahrestriebes ansiedelt, habe ich oft wahrgenommen. Dagegen habe ich derartige Pilzbildungen an älteren Stammteilen nicht getroffen.“

Die zitierte Behauptung Aderhoids ist leider — vom Standpunkt des Obstzüchters betrachtet — so unzutreffend, daß eher das Gegenteil richtig ist. Denn die jungen Apfelbaumtriebe leiden fast ebenso stark unter der Schorfkrankheit als die Birnbaumtriebe. So ist es wenigstens der Fall in meiner Gegend, im Hildesheimischen, obwohl wir meist erstklassigen Boden haben. Die Fruchtlager des Schorfsitzes stellen pustelartige, ellipsenförmige Auftreibungen im Periderm vor, in der Mitte mit einem Längsschlitz aufgeplatzt, woraus das Stroma als eine tiefbraune, bröckelige Masse herauschaut. Die Ränder des Schlitzes sind zerrissen, flutterig und trockenhäutig. Neben diesen Bildungen kommen blasige, kleine Pusteln vor, die noch nicht aufgeplatzt sind. Querschnitte zeigen sodann, daß die äußersten Peridermschichten der Rinde gesprengt und abgehoben sind. Und in sie gleichsam eingeklemt, liegen auf den unteren Peridermschichten die höckerartigen Stromapolster, während die äußeren sie dachförmig überdecken. So ist das topographische Bild der Fruchtlager gewöhnlich an den Trieben im Winter, wo sie den Eindruck machen, als unterminierten sie nur die Peridermschichten. Eine ähnliche Lagerung haben sie im Oberhautgewebe des Blattes, wo sie sich unter der gesprengten und abgehobenen Kutikula und auf der Epidermiszellschicht ausbreiten. Das hat denn wohl die Veranlassung dazu gegeben, daß R. Aderhold²⁾ erklärte: „Der Pilz ist kein ausgesprochener Parasit, steht vielmehr den epiphytischen Formen seiner Stammesgenossen näher, als den echten Schmarotzern. Sein Mycel dringt in gesunde Gewebe nicht aktiv ein. Nur die Kutikula ist es zu unterminieren imstande. Unter dieselbe gelangt, breitet es sich zwischen ihr und der äußeren Wand der Epidermiszellen nach allen Richtungen hin aus, die Kutikula an diesen Stellen abhebend.“

Allein, wie der Pilz bei seiner Ansiedelung auf der Apfelfrucht über die Epidermiszellschicht hinaus in das Fruchtfleischzellgewebe eindringt, was auch von Aderhold beschrieben wurde, ebenso beschränkt er sich

¹⁾ Eriksson, J., Die rote Farbe der Fruchtschale und die Schorfkrankheit der Obstsorten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 21. 1911. p. 129.) — Gegenüber meiner Auslassung, die rote Herbst- und die rote Winterkalvillsorte sei von mir *fusicladium* frei gefunden, was möglicherweise mit dem roten Fruchtschalenfarbstoff zusammenhänge im Gegensatz zu der *fusicladium* reichen weißen Winterkalvillsorte macht Eriksson die interessante Mitteilung, daß gerade der Rote Winterkalvill in Schweden befallen werde. Mit Recht folgert hieraus der schwedische Forscher, daß in der Schalenfarbe der Früchte nicht an und für sich und nicht unter allen Verhältnissen (Latituden) ein Schutzmittel gegen den Schorfpilzangriff vorliegt. — Übrigens habe ich mich etwas hypothetischer ausgedrückt, als nach dem Erikssonschen Zitat, das in bezug auf das verschiedene Verhalten der beiden Kalvillensorten gegen den Parasiten meine Worte „Eine Erklärung für dieses ungleiche Verhalten nächster Sortenverwandten ist schwer zu geben. Es liegt freilich nahe usw.“ in diesem Zusammenhange nicht wiedergibt. Vgl. Voges, E., Die Bekämpfung des *Fusicladium*. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 20. 1910. p. 385.)

²⁾ A. a. O.

nicht auf die Peridermschichten des Zweiges, sondern er bahnt sich seinen Weg in das Collenchymgewebe der Rinde. Und ähnlich verhält es sich bei dem Blatte, wo der Pilz anfangs freilich nur subkutikular, späterhin aber auch im Mesophyll erscheint. An einjährigen gründigen Apfelzweigtrieben, die im Mai trotz ihres gesunden Blattwerks und eines kräftigen Endknospentriebes sich in vollem Siechtum befanden, umschloß das Oberhautgewebe partienweise nur ganz locker das Rindengewebe, von dem es abgehoben war. Die Fruchtlager quellen hier gleichsam aus den Rindentaschen hervor. Sie waren bedeckt mit mächtig entwickelten Konidien, die zum großen Teil, von den Trägern abgefallen, die Fruchtpolster bedeckten und kräftige Keimschläuche getrieben hatten unter der Einwirkung einer feuchten Umgebung. Daß es nicht nur möglich ist, wie Eriksson¹⁾ meint, „daß die Pilzlager der über den Winter fortlebenden Stammteile der Jahrestriebe für die Pilzüberwinterung wirksam sein können“, sondern daß dies ohne weiteres der Fall ist, und daß ein solch reiches und kräftiges Sporenmaterial auf den überwinterten Stromata in der Zweigrinde die größte Bedeutung für Neuinfektionen im Frühjahr hat, sowohl für Blätter, wie Triebe — das liegt auf der Hand. Das großmaschige, paraplektenchymatische Gewebe der dicken Stromapolster bestand aus fast radiär angeordneten, senkrecht zur Zweigachse stehenden Zellreihen. Das abgehobene Periderm war vollständig unterminiert, und die Masse des Fruchtlagers lag auf der Collenchymschicht, in die schmale Stränge des Stroma interzellulär drangen, welche die nunmehr abgestorbenen, schalenförmigen Zellen auseinander getrieben hatten.

In dem Rindengewebe dieser Zweigtriebe tauchen selbständige Holzkörper auf, wie sie besonders durch P. Soraue bekannt geworden sind. Übrigens trifft man sie nicht nur in dem Rindenparenchym der durch Frostwirkungen oder durch parasitäre Angriffe erkrankten Apfelbaumzweige, sondern auch in dem Rindengewebe normaler Zweige, denen man weiter keine Störungen ansieht nach ihrem histologischen Verhalten. Wie Querschnitte durch die Rindentasche mit dem *Fusicladium* lager des schorfigen Zweigtriebes dartaten, so war in dem Rindenkörper eine weitgehende Gewebsveränderung eingetreten: Zu äußerst die abgehobenen Peridermschichten, darunter, unter diesem Dache, die *Fusicladium* lager auf dem vollständig verzerrten und dickwandig aufgetriebenen Collenchym, das wie das Rindenparenchym mit den Bastbündeln abgestorben war. Und als Grenze zwischen dem abgestorbenen und dem lebenden Gewebskörper eine mehrschichtige Wundkorkzone, die in unregelmäßigem Verlaufe durch das neue Rindengewebe dieses Zweigteils mit neu gebildeten Bastfaserbündeln und radiär angeordneten Parenchymzellreihen strich. Diese durch das Schmarotzertum des *Fusicladium* hervorgerufenen Gewebsveränderungen, die wiederum zu funktionellen Störungen führten, insonderheit zu einer übermäßigen Transpiration, sind meist so tiefgreifend, daß darunter der Zweigtrieb schließlich verdorrt und abstirbt, wenn er auch anfangs noch Blätter getrieben hat. Der Parasit ist eben im Kampfe mit seinem Nährwirt der Sieger geblieben.

III.

Das *Fusicladium* hat seinen Hauptsitz zwar im Oberhautgewebe, in den leblosen Derivaten der Epidermis, insofern als sich hier seine Frucht-

¹⁾ A. a. O. p. 131.

lager aus breiten. An Blattquerschnitten trifft man aber auch mikroskopische Bilder, die zeigen, wie der Pilz zwischen die Zellwände zweier benachbarter Epidermiszellen sich klemmt und diese in ihrem oberen Teile auseinander-treibt. Fig. 1. Die Wandungen erscheinen stellenweise wie eingedrückt und verschoben, und durch den Druck der Hyphen ist die äußere Epidermis-zellwand gegen das Zelleninnere vorgestülpt. Während zu Anfang der Vegetationsperiode das *Fusicladium* nur subkutikular auftritt, findet man gegen deren Ende, wenn die Fruktifikation nachläßt, um die Mitte August das Mycel des Pilzes auch im Mesophyll. Die Hyphen erscheinen allerdings so blaß, daß sie ohne Färbungen (Methylenblau) kaum nachweisbar sind, zumal sie anfangs auch nicht gerade zahlreich auftreten. Das *Fusicladium* ist also in seiner Verbreitung nicht auf die Kutikula beschränkt, sondern es dringt schließlich auch in das lebende Blattgewebe ein. Wenn A d e r h o l d¹⁾ bemerkt, daß man niemals

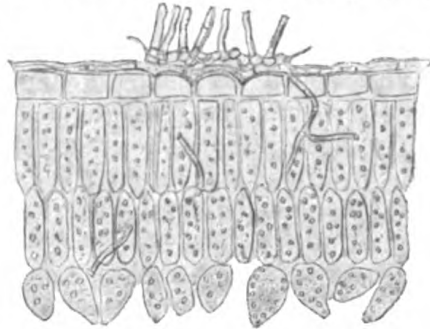


Fig. 1.

an dem subkutikularen Mycel Hyphen beobachte, die in das Blatt eindringen, so lange dasselbe lebe, so ist das nicht richtig. Anfang Oktober untersuchte ich sodann wieder fusicladienhaltige Apfelblätter und fand im Schwammparenchym abgestorbene Zellenpartien neben grünen Zellen, die von dicken Hyphensträngen durchzogen waren und deren Enden in die großen Interzellularräume des Schwammparenchyms ragten. Daneben, ebenfalls in diesem Gewebe, erschienen verschlungene Hyphengebilde, vielleicht die ersten Anlagen der Perithezien des Pilzes, die bekanntlich im reifen Zustande das vermodernde Blatt im Frühjahr enthält. Was aber wird denn aus den Fruchtlagern des *Fusicladium* auf den Blättern? Ende Oktober fand ich auf den blasig aufgetriebenen abgestorbenen Blattstellen die Fruchtlager ohne Konidien, während die Konidienträger als große, steife bernsteingelbe, septierte Hyphenäste, hier und da mit seitlichen, hellen, sackartigen Austreibungen erschienen: das Stroma war in das Stadium des Dauermycels übergegangen.

In der ersten Zeit der Ansiedelung ist keine Einwirkung des Pilzes auf den Zellorganismus zu erkennen. So etwa auf das Verhalten der Zellkerne, daß diese vielleicht durch irgendwelche, nicht näher erklärbare Reizwirkungen gegen die auf die Zellwand stoßenden Pilzhypen wanderten, daß also eine Stoffumlagerung und Gleichgewichtsstörung im Protoplasten vor sich ginge, wie ein ähnliches Verhalten von Nordhausen²⁾ beschrieben wurde, wonach der Zellkern der Wirtszelle gegen die eindringenden Hyphen wandert — das war hier nicht der Fall. Der Epidermiszellkern lag gewöhnlich am Grunde der Zelle, weniger oft in der Mitte oder unter der äußeren Zellwand. Die erste auffällige Veränderung des Protoplasten der Epidermiszellen unter den Fruchtlagern des *Fusicladium* trat dann in der Weise hervor, daß an Stelle des bisherigen farblosen Plasmainhalts eine grünlich-gelbe, große, öltartige Kugel fast den ganzen Zellenraum ausfüllte. Weiterhin im Juni erschien in den Epidermiszellen ein Inhalt, welcher dem Wundgummi in seinem Aussehen glich. Gleich-

¹⁾ A. a. O. p. 882.

²⁾ Beiträge z. Biologie parasitärer Pilze. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. Bd. 33. 1899. p. 44.)

zeitig hatte eine Gelbfärbung großer Partien des Mesophylls Platz gegriffen.

Besonders auffällig erwiesen sich die Veränderungen des Blattgewebes der fusicladienhaltigen Blätter einer Kanadarenette. Sie besaßen blasenförmige Blattaufreibungen, die an Gallbildungen durch Milben erinnerten. Aderhold spricht von dem älteren Fusicladienfleck als von einer oft buckelig oder warzig erhabenen Blattstelle. Die vorhin gekennzeichneten ersten Verfallerscheinungen des Blattgewebes gingen hier nun schon weiter. Die unter der Epidermis mit den *Fusicladium* lagern gelegenen collenchymatischen Zellelemente der Gefäßbündelstränge der Blattnerven waren abgestorben. Ihre Zellwände waren schalenartig und verholzt sowie verkorkt, wie die Sudanreaktion auswies; der Zellinhalt braunfarbig und klumpig. Während die unmittelbar an die Epidermis grenzende Gruppe der verkorkten collenchymatischen Zellen des Gefäßstranges eine länglich runde Gestalt gleich den echten Collenchymzellen besitzen, hatten die darunter liegenden eine gestreckte Form senkrecht zu jenen, in Übereinstimmung mit den zu beiden Seiten anschließenden Palisadenzellen. Unter jener aus 9—10 Zellen bestehenden Korkzellenreihe lag die zweischichtige Phellogenzone.

Was aber vor allem an diesen pustelartigen Auftreibungen auffiel, das war das Verhalten ihres Palisadengewebes. Was Aderhold¹⁾ hierüber angibt, das ist folgendes: „Dabei traten bisweilen während des Absterbens der ersten Palisadenschicht innerhalb der zweiten einige der Wundfläche parallel laufende Querwände auf, die man als die Anfänge einer Wundheilung zu betrachten hat. Allein, zu einer regelrechten Peridermbildung wie sie an der Frucht auftritt, sah ich es niemals kommen.“



Fig. 2

Das Palisadengewebe der blasenförmig aufgetriebenen, fusicladienhaltigen Blattstellen besteht scheinbar aus drei Schichten, tatsächlich sind es jedoch meist nur zwei. Ein hypertrophisches Längswachstum der Palisadenzellen sowie Querwandbildungen in ihnen täuschen jenes Bild vor. Die hypertrophierten Zellen der oberen, an die Epidermis stoßenden Schicht sind durch ein bis drei Querwände in zwei bis vier Zellen geteilt. Fig. 2. Die Zellwände sind verbogen und die äußere an die Epidermis stoßende tangential Zellwand stark verdickt. Und eine Verkorkung der Zellwände hat Platz gegriffen, die in wechselnder Weise auftritt. Entweder sind zwei Zellen der durch zwei oder drei Querwände geteilten Palisadenzellen verkorkt, was gewöhnlich der Fall, oder nur die obere. In der Umgebung der Blattnerven kommt es sodann vor, daß die Palisadenzellen der ersten Schicht drei Querwände haben. Dann waren die oberen beiden Zellen verkorkt; die beiden unteren hatten einen gelbkörnigen Inhalt. Oder die erste Schicht besitzt ungeteilte, aber verkorkte Zellen und die Zellen der zweiten Palisadenschicht sind durch ein bis drei Querwände geteilt und die obere Zelle bzw. die beiden oberen Zellen haben verkorkte Membranen. Es ist überhaupt in der Querwandbildung und Verkorkung keine feste Regel erkenn-

¹⁾ A. a. O. p. 882.

bar, obschon sie vorzugsweise bei den Zellen der oberen Palisadenschicht vorkommt. Hier ist es, wenn man will, also entgegen dem Befunde A d e r h o l d s tatsächlich zu einer Art „regelrechten Peridermbildung“ gekommen! An den Palisadenzellen anderer blasenförmig aufgetriebener Blattstellen mit einer gleich üppigen *Fusicladium* vegetation war indes keine Metakutisierung zu erkennen. Es ist nun wohl anzunehmen, daß die geschilderten abnormalen Gewebsbildungen in einem gewissen Zusammenhang mit der Pilzbesiedelung stehen, obschon das nicht ohne weiteres festzustellen ist. Wie wir wissen, so rufen Pilzparasiten hypertrophische Gewebsbildungen hervor. Es sei nur an *Exoascus deformans* erinnert.

Wenn auch nicht allemal eine Suberinlamellenbildung bei den Zellen der von *Fusicladium* befallenen Blätter eintritt, so stellen sich doch die Verfallerscheinungen im Protoplasten gleichmäßig ein. Wie in den Epidermiszellen, womit anscheinend der Anfang gemacht wird, so bilden sich auch in den Palisadenzellen und in den parenchymatischen Zellen der Leitbündel die öligen und gummiartigen Ballen und Klumpen, bis schließlich eine gelbe krümelige Inhaltsmasse in den abgestorbenen, dickwandigen Zellen erscheint. Das alles ist ohne Frage das Zerstörungswerk des Pilzes.

IV.

Erschien anfangs das Verhältnis des *Fusicladium* pilzes zu seinem Wohnungsgeber ganz harmlos und friedfertig, als tue der eine dem anderen nichts an, so ändert sich das einträchtige Zusammenleben nach einiger Zeit, sowie der Bewohner festeren Fuß auf der Besiedelungsstätte faßte und sich stärker ausbreitete. Gelingt es ihm auch zunächst nicht, sich von seinem subkutikularen Sitz den Weg zu den Zellkammern seines Wirtes zu bahnen, obwohl, wie bereits erwähnt, seine Hyphen die Zellwände benachbarter Epidermiszellen in ihrem oberen Teile zum Auseinanderweichen bringen, als werde ein Keil dazwischen getrieben, so traten doch in den Zellen, auf denen er zubringt, dieselben Zerfallerscheinungen auf, wie wir sie an dem Zellgewebe sehen, das im Innern vom Pilzmycel durchzogen ist. Welcher Art jedoch das Wechselverhältnis des *Fusicladium* pilzes zu seinem Wirt ist, wodurch die zum Absterben des Zellorganismus führenden Stoffveränderungen in den Zellen hervorgerufen werden, ob durch bestimmte Ausscheidungsprodukte des Pilzes, welche durch die Zellwand hindurch in das Zellinnere dringen, oder ob interzellulär auf den Bahnen der Plasmaverbindungen zwischen den Epidermiszellen aus diesen gewisse Stoffe herauswandern infolge von Reizwirkungen seitens des Pilzes, die eine Stoffänderung und den Zerfall in den Zellen einleiten, das entzieht sich unserer Kenntnis. Wir sehen immer nur die Resultate unbekannter Vorgänge, diese selbst aber nicht. Es ist wohl anzunehmen, daß die Wandungen benachbarter Epidermiszellen von Plasmaverbindungen durchquert werden, daß also durchweg im Oberhautgewebe solche bestehen unter den lebenden Zellen. Und ferner, daß, wo Pilzhypen unter der Kutikula und interzellulär über solchen Durchtrittsstellen lagern, daß dort eine stoffliche Wechselbeziehung zwischen Pilz und Plasmodesmen eintreten kann.

Wie bei dem Blatte, so hat auch bei der Obstfrucht der *Fusicladium* pilz seine Siedelstätte subkutikulär auf der Außenwand der Epidermiszellen. Jedoch sind diese weit beträchtlicher, als im Epidermisgewebe des Blattes oft auseinandergetrieben. Und das Mycel des Pilzes ist dann

interzellulär in die Gewebsregion gedrungen, welche dem Collenchym entspricht. Und wie bei dem Blatte und der Frucht die Kutikula, so ist bei dem Zweige das Periderm gesprengt und der Pilz zu dem Collenchymgürtel vorgedrungen. Aber aus diesem Sitz, allgemein aus einem bestimmten örtlichen Vorkommen im Wirtskörper ergibt sich nicht die parasitäre Natur eines Pilzes, sondern aus dem Vermögen, den lebenden Zellorganismus abzutöten und auszuzehren. Und daß der *Fusicladium* pilz die lebenden Zellen abzutöten vermag, das müssen wir aus deren Absterbeerscheinungen schließen. Und daß er ferner die Zellen auszehrt, das ist wohl zweifellos. Denn woher sollte er dann seine Nahrung nehmen? Was ihm die Außenwelt, die umspülende Luft und Niederschläge an verwendbaren Stoffen zuführen, damit wird er schwerlich seine Bedürfnisse decken können. Wenn daher R. Aderhold erklärt, der *Fusicladium* pilz sei kein ausgesprochener Parasit, er stehe seinen epiphytischen Stammesgenossen näher als den echten Schmarotzern und dringe in gesunde Gewebe nicht aktiv ein, so können wir diese Ansicht nicht teilen, sondern wir halten vielmehr den *Fusicladium* pilz auf Grund der obigen Darlegungen für einen echten Parasiten. Genau genommen, beginnt sein aktives Vordringen in gesunde Gewebe schon mit dem Augenblick, wo er unter der Gestalt als Spore seinen Keimschlauch in die Kutikula des Wirtsorganismus bohrt, des Blattes, Zweigtriebes oder der Frucht, und seine Hyphen keilförmig zwischen die Zellwände des Oberhautgewebes zwängt und hier alsdann bestimmte biochemische Reaktionen der belasteten lebenden Zellen hervorruft, die sich entweder in einem erfolgreichen Widerstande des Wirtsorganismus äußern, indem dieser eine Korkzellenbarriere gegen das weitere Vordringen des gefährlichen Gastes errichtet. Oder sich äußern in einem Plasmazerfall aller in der Nähe des Pilzeindringlings gelegenen lebenden Gewebelemente, in Absterbeerscheinungen der Zellen, wodurch ihm weiter der Weg in das Zelleninnere seines vollends absterbenden Wirtes frei wird.

Was sodann das epiphytische Verhältnis des Pilzes zu seinem Wirt betrifft, wovon R. Aderhold spricht, so verliert nach unseren Auseinandersetzungen die Unterscheidung von Epiphyt und Endophyt überhaupt an Bedeutung für die parasitäre Natur eines Pilzes. Die Bezeichnungen haben nur einen topographisch-deskriptiven Wert. Wenn wir von der Vorstellung ausgehen, daß Plasmaverbindungen die Zellwände durchqueren, so existiert kein eigentlicher Gegensatz zwischen Zelleninneres und Zellenäußeres oder Zwischenraum. Wir haben es allemal mit einem Einheitlichen zu tun, nach unserer Vorstellung mit einem plasmatischen Einheitlichen oder einem „Symplasten“.

Zu den äußeren Umständen, welche eine Ansiedelung aller die Zweigdürre herbeiführenden parasitären Pilze begünstigen, also eine Prädisposition bei dem Nährwirt schaffen, gehören bekanntlich Witterungseinflüsse, insbesondere Frost und Glatteis sowie Hagelschlag, ferner ein ungünstiger Boden und Standort, starkes Beschneiden, Blattlausbefall der Zweigtriebe usw., wodurch eine Schwächung des Baumorganismus verursacht und der Gesundheitszustand und seine Widerstandsfähigkeit gegen die Angriffe der Parasiten herabgedrückt wird. Daß in diesem Frühjahr nun eine auffällige Zweigdürre in unserer Gegend vorkam, trotz des überaus milden Winters und nur gelinder Frühjahrsfröste — diese Erscheinung hängt vielleicht damit zusammen, daß im Juli vorigen Jahres hier ein schweres Hagelwetter

herniederging, das an den Holzgewächsen unvollständig verheilte Quetsch- und Schlagwunden hinterließ, welche die Eingangspforten und ersten Besiedelungsstätten der Pilzschmarotzer wurden. Wie auch die Hagelschlagwunden von tierischen Parasiten mit Vorliebe bezogen werden, das konnte ich an den Zweigen verschiedener Buschbäume meines Gartens sehen, wo gerade in den Hagelschlagwunden sich Blutlauskolonien angesiedelt hatten, während andere Stellen der Zweige frei davon waren.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Senkrechter Durchschnitt durch ein Apfelblatt mit einem *Fusikladium* fruchtlager, von dem Hyphen in das Blattgewebe treten. Vergr. 500.

Fig. 2. Stück eines senkrechten Durchschnitts durch die blasige, fusikladienhaltige Apfelblattauffreibung. a) von dem Fruchtlager des *Fusikladium dendriticum* zusammengedrückte abgestorbene Epidermiszellen. b) Zwei obere verkorkte Zellen der hypertrophierten Palisadengewebsschicht. Vergr. 500.

Nachdruck verboten.

Infektionsversuche mit *Peronospora*.

[Mitteilung a. d. Kg. Ung. Ampelologischen Zentralanstalt Budapest.]

Von Prof. Dr. Gy. von Istvánffi, Direktor, und Gy. Pálincás, Assistent.

Um die *Peronospora* mit vollem Erfolg bekämpfen zu können, ist es notwendig, sich über die Biologie des Parasiten genau zu orientieren; die Bekämpfung kann nur in dem Maße fortschreiten und verbessert werden, in welchem es uns gelingt, die Entwicklung, Wachstumsbedingungen, Widerstandsfähigkeit, mit einem Wort die Biologie des Parasiten und sein Verhältnis zum Weinstock aufzudecken.

In der Biologie der *Peronospora* ist in der Tat noch sehr viel zu erforschen, und wenn wir uns mit der praktischen Bekämpfung genauer befassen, so sehen wir so viel neue Fragen auftauchen, daß wir uns unbedingt gezwungen fühlen, neuere Untersuchungen in Angriff zu nehmen. So befaßte ich mich vordem besonders mit der Frage der Überwinterung. Ich konnte dabei feststellen, daß das Mycelium der *Peronospora* in den Rebtrieben überwintert¹⁾. Dieses Ergebnis wurde auch von anderer Seite nachgeprüft und fand Anerkennung²⁾.

Wegen meiner ganz außerordentlichen amtlichen Inanspruchnahme blieb mir keine Zeit für weitere diesbezügliche Untersuchungen; ich mußte mich damit begnügen, Material zu sammeln zur Feststellung der gegenseitigen Beziehungen zwischen der *Peronospora* und der Witterung³⁾. Dabei

¹⁾ Istvánffi, Gy., A szőlő peronosporájának kitelezéséről. [= Über die Überwinterung der *Peronospora*.] Növénytani Közlemények. Budapest. III. 1904. p. 74—77. m. 3 Fig.).

—, Sur la perpétuation du Mildiou de la Vigne. (Compt. Rend. de l'Acad. d. Scienc. T. 138. 1904. p. 643—644, und Rev. de Viticult. T. 21. 1904. p. 312).

²⁾ Babo u. Mach, Handbuch d. Weinbaues u. d. Kellerwirtschaft. 3. Aufl. I. 1910. p. 1076.

³⁾ Istvánffi, Gy., A peronospora elleni küzdelemről. [= Über den Kampf gegen die *Peronospora*.] Borászati Lapok. (Budapest). 43. 1911. p. 4—5, 26—27, 43—44).

Istvánffi, Gy., Tapasztalataink az 1910. -iki peronosporajárvány körül. [= Unsere Erfahrungen betreffs die *Peronospora* Epidemie vom J. 1910.] Előadások a szőlészeti és a borászat köréből. (Budapest). 1911. p. 102—118).

Istvánffi, Gy. de et Sávoly, F., Recherches sur les rapports entre le temps et le Mildiou en Hongrie. (Congrès internat. de Viticult. (Montpellier). 1911. Extr. p. 1—13).

blieb aber eine der wichtigsten Fragen, nämlich die die Inkubationszeit betreffende noch immer offen. Die genaue Kenntnis der Inkubation ist aber wegen der richtigen Einteilung der praktischen Bekämpfung höchst wichtig. Im wesentlichen kann diese Frage auf dem Wege der künstlichen Infektion, der künstlichen Hervorrufung der Krankheit, streng experimentell, gelöst werden.

Auf dem Wege der abwechselnden Bespritzung suchte Capus die Inkubationszeit zu ermitteln. Auf dem Wege der künstlichen Infektion trachteten — neuerdings — Ruhland und Faber¹⁾ (1908), der Frage näher zu treten, indem sie im Glashause junge Rebsämlinge infizierten. Im Laufe dieses Jahres veröffentlichte Müller-Thurgau²⁾ seine Arbeit über die Infektion der in Töpfen gezogenen Reben im Glashaus.

Aber schon bedeutend — um 21, beziehungsweise 23 Jahre — früher veröffentlichte Millardet³⁾ detaillierte Angaben über den Gegenstand.

Millardet hat unsere Kenntnisse über die *Peronospora* um Großes gefördert und hat seine Infektionsversuche, die er auf abgeschnittenen Blättern von Chasselas-Trieben im Glashaus anstellte, im Jahre 1887 veröffentlicht.

Bei alledem muß nun festgestellt werden, daß im Freien (unter natürlichen Verhältnissen) die Infektion des Rebstockes noch gar nicht versucht wurde, ferner, daß über Traubeninfektion in der Literatur überhaupt nichts zu finden ist.

Die Frage mußte also von allen Seiten untersucht werden, um dann die Infektion der Blätter im Freien auf dem Rebstock selbst und außerdem die Infektion der Trauben im blühenden („Gescheine“) und im fruchtenden Zustand zu versuchen. So blieb also trotz der erwähnten Literatur noch manches Wichtige zu erforschen übrig. Am wichtigsten, aber auch am schwersten war wohl die Infektion, die Übertragung der Krankheit im Freien, um so die Entwicklung der Krankheit auf diesem allein beweiskräftigen Wege studieren zu können.

Die Arbeit nahm ich voriges Jahr in Angriff, aber wegen meiner, wie erwähnt, ganz besonderen amtlichen Inanspruchnahme mußte ich die Untersuchung einstellen, ohne Rücksicht auf ihre Wichtigkeit. Dieses Jahr führte ich meinen Assistenten Gy. Pálincás in das Studium der *Peronospora* ein, der dann unter meiner ständigen Leitung mit großem Geschick und Ausdauer die Versuche ausführte. Die bisher erreichten Resultate⁴⁾ gestatte ich mir, nun vorläufig in kurzer Zusammenfassung zu veröffentlichen. Die detaillierte Veröffentlichung der bezüglichen Untersuchungen, sowie die Bearbeitung vieler anderer Nebenfragen werden im Ber. der k. ung. Ampelolog. Anstalt, Budapest herausgegeben (französische Ausgabe: Bulletin de l'Institut Ampélogique Roy. Hongr.).

¹⁾ Ruhland u. Faber, Zur Biologie der *Plasmopara viticola*. (Ber. üb. d. Tätigk. d. Kais. Biolog. Anst. f. Land u. Forstwirtsch. i. Jahre 1908. Heft 8. 1909 p. 19—21).

²⁾ Müller-Thurgau, H., Infektion der Weinrebe durch *Plasmopara viticola*. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 29. 1911. p. 683—695).

³⁾ Millardet, A., Nouvelles recherches sur le développement et le traitement du Mildiou et de l'Anthracnose. 1887. p. 73—76.

⁴⁾ Mitgeteilt in ungarischer Sprache: Istvánffi, Gy., és Pálincás, Gy., Fertőzési kísérletek peronosporával. (Borászati Lapok. Budapest. 43. 1911. p. 557—559, 576—577, 591—592, 606—607, 621—622, 637—639.)

1. Künstliche Infektion auf Blättern abgeschnittener Triebe.

Die Blätter auf abgeschnittenen größeren Trieben können leicht und sicher infiziert werden, wenn in die Triebe Wasser eingepreßt wird, um den Turgor der Zellen aufrecht zu erhalten und wenn die Triebe in einer Atmosphäre von 90 Proz. relativer Luftfeuchtigkeit und 20—22° C gehalten werden, weil unter solchen Umständen der Parasit die Bedingungen seiner Entwicklung leichter vorfindet als auf abgeschnittenen, rasch absterbenden Blättern, auf denen die Infektion ev. mißlingt.

Die Infektion der Blätter geschah an solchen Stellen, die mit nicht wasserlöslicher Tuschfarbe ringförmig bezeichnet wurden, teils auf der Unter-, teils auf der Oberseite der Blätter, indem nämlich die mit Konidien der *Peronospora* gemischten Wassertropfen in die Mitte der mit Tusche angezeichneten Ringe gesetzt wurden; auf diese Art und Weise konnte die Infektion genau kontrolliert werden. Am vierten Tage nach der Infektion zeigten sich auf der Unterseite der Blätter inmitten der Ringe, also an der Stelle der Infektionstropfen, hie und da spärliche Konidienträger, am fünften Tage waren noch mehr sichtbar, so daß von 201 Infektionsstellen in 87 Fällen Konidienträger erschienen, was 43 Proz. ausmacht. Da die Infektion der Oberseite der Blätter (195 Infektionen) selbst noch am zehnten Tage wirkungslos blieb, so wurde dieser Orientierungsversuch abgeschlossen.

2. Künstliche Infektion im Freien.

Die Versuche im Freien wurden in der Rebanlage der kgl. ung. Ampelologischen Zentralanstalt ausgeführt.

1. Der erste Infektionsversuch fand statt am 10. Juni 1911, bei kühlem, regnerischem Wetter, auf Rebstöcken der Sorten Furmint, Weißer Burgunder, Kadarka, Hárslevelü und Wälsch-Riesling.

Die durchschnittlich 10—12 cm breiten Blätter wurden zwischen je zwei, auf dem Rebpfahl angebrachten Glasschalen eingeschlossen, wobei auf ihre mit Wasser bespritzte Unterseite *Peronospora*-kranke Blätter gelegt wurden und ferner dafür gesorgt wurde, daß die Blätter ein bis zwei Tage lang in feuchter Atmosphäre sich befinden.

Am zehnten bis elften Tage der Infektion erschienen die bekannten Ölflecken.

Auf allen Blättern erschienen zahlreiche Ölflecken, was dafür spricht, daß die künstliche Infektion auch im Freien ziemlich leicht gelingt, wenn man nur auch richtig vorgeht.

2. Der zweite Infektionsversuch wurde am 12. Juni bei trockenem Wetter auf weißem Burgunder ausgeführt; die mit Konidien gemischten Wassertropfen wurden in die Mitte der durch Tuschfarbe bezeichneten Ringe auf der Oberseite der etwa 15 cm breiten und etwa 60 cm vom Boden entfernt stehenden Blätter verteilt. Nach 9½ Tagen erschienen die Ölflecken, aber nur in drei Fällen von zusammen vierzehn Infektionsstellen. Es ist damit erwiesen, daß die Blätter auch von der Oberseite aus Ansteckung erleiden, aber zugleich zeigt es sich, daß das Eindringen der Keimschläuche auf der Oberseite des Blattes schwerer und weniger häufig stattfindet.

3. Der dritte Infektionsversuch geschah am 14. Juni bei kühlem, regnerischem Wetter, wobei ein ganzer Furmintstock¹⁾ infiziert wurde, indem nämlich die vom Regen nassen Blätter des Rebstockes mit seit zwei bis drei Tagen

¹⁾ Furmint ist die Hauptsorte des Tokajer Weines.

dichte Konidienrasen aufweisenden *peronospora* kranken Blättern eingerieben und nebst dem der ganze Stock mit *Peronospora*-Konidien enthaltendem Wasser bespritzt wurde. Nach neun Tagen waren an vielen Blättern des Stockes Ölflecken sichtbar, u. zw. erwiesen sich von den insgesamt 86 Blättern des Stockes 52 Blätter, also 60 Proz., als angesteckt. Behufs Kontrollierung wurde zur gleichen Zeit an fünf anderen, nicht behandelten Stöcken der Prozentsatz der kranken Blätter festgestellt; es erwiesen sich von insgesamt 610 Blättern der fünf Stöcke bloß 125 krank, was 20 Proz. entspricht.

Es soll aber noch besonders bemerkt werden, daß an dem behandelten Stock nicht nur die Zahl der kranken Blätter (um 40 Proz.) größer war, sondern daß auch die Zahl der Ölflecken mehr betrug, denn die Blätter des behandelten Stockes wiesen durchschnittlich 7 (zumindest 1—2, höchstens 30), diejenigen der Kontrollstöcke dagegen durchschnittlich nur 2 (u. zw. 1—3) Ölflecken auf. Dieser Versuch zeigt, daß bei feuchtem Wetter die Zahl der Infektionen eine sehr große sein kann, vorausgesetzt, daß die *Peronospora*-Konidien reichlich in dem Weinberge vorhanden sind.

In Zusammenhang mit diesem Versuche wurde die Epidermis mehrerer Blätter durch Reiben und Ritzen verwundet, um zu erfahren, ob an den wunden Stellen die Schwärmsporen leichter eindringen. Es stellte sich aber heraus, daß auf keiner einzigen Wundstelle eine Infektion stattfand.

4. Der vierte Infektionsversuch wurde am 3. Juli angestellt, bei regnerischem Wetter, auf Stöcken der Sorten Blaufränkisch, Kadarka, Wälsch-Riesling, Furmint und Hárslevelü.

Die in den vorhergehenden Fällen angeführten künstlichen Infektionen dürfen noch nicht als unbedingt beweiskräftig gelten, weil die Versuche leichtmöglich durch spontane, d. i. natürliche Ansteckung eine Trübung erfahren haben können.

Um die Möglichkeit einer natürlichen Ansteckung ganz auszuschließen, wurden bei den neuerdings ausgeführten Versuchen die Infektionstropfen in Form von einfachen Figuren und Buchstaben auf den Blättern angebracht. Die Blätter wurden neben den Stöcken auf konsolartige Bretter ausgespannt und mit großen Glasschalen überdeckt, die von innen mit feuchtem Filterpapier ausgelegt waren. Ein Teil der Blätter wurde an der Ober-, ein anderer an der Unterseite infiziert.

Am 10. bis 11. Juli zeigten sich auf sämtlichen Versuchsblättern zerstreut Ölflecken; es waren also zu ihrer Ausbildung diesmal nur noch 7—8 Tage notwendig, was der nunmehr wärmeren Witterung zuzuschreiben war.

Die infizierten Blätter wurden am 17. Juli, zu welcher Zeit bloß erst an den mehr behaarten Blättern der Sorten Furmint, Hárslevelü und Kadarka spärliche Konidienrasen erschienen, abgeschnitten und ins Laboratorium getragen, wo unter der feuchten Glocke an allen Ölflecken Konidienträger herauswuchsen. Die auf die Blätter mit Infektionsflüssigkeit gezeichneten Figuren waren freilich nicht so tadellos wie bei Zeichnungen auf Papier, weil ja die Tropfen auf dem Wachsüberzuge der Blattepidermis zum Teil zusammenliefen. Dies war besonders auf der Blattoberfläche der Fall, und bei den stark behaarten Unterseiten einiger Sorten konnte die Zeichnung wegen der Behaarung nicht genau gelingen. Immerhin war eine den Zeichnungen sehr gut entsprechende Anordnung der Ölflecken zu konstatieren.

5. Der fünfte Versuch geschah am 4. Juli bei trockenem Wetter. Es wurden jetzt amerikanische Unterlagssorten und Hybriden ausgewählt,

u. zw. *Riparia Portalis*, *Rupestris du Lot*, *Vitis Solonis* und *Aramon* × *Rupestris Ganzin* No. 2. Die Infektion geschah nur auf der Unterseite der Blätter, wieder in Gestalt von verschiedenen, leicht merklichen Figuren.

Auf dem Blatt von *Rupestris du Lot* zeigten sich nach 5½ Tagen, bei den übrigen Sorten nach 6—7 Tagen kleine, nadelstichförmige, dunkelbraune Flecken, hauptsächlich am Rande der Infektionstropfen, was dafür spricht, daß die Schwärmsporen dorthin strömten und sich dort einbohrten. Die wenigsten Eindringstellen waren auf *Riparia Portalis* zu beobachten; die meisten zeigten sich auf *Aramon* × *Rupestris Ganzin* No. 2, wo sogar regelrechte, gelbliche Ölflecken sichtbar wurden, was sicherlich dem europäischen Blut der Sorte zu verdanken ist. Besonders rein und zusammenhängend waren die Figuren auf *Vitis Solonis* zu sehen. Konidien wuchsen in der Feuchtkultur auf *Vitis Solonis* und *Aramon* × *Rupestris Ganzin* No. 2 in geringer Menge heraus; auf *Riparia* und auf *Rupestris* jedoch erschienen gar keine Konidien.

6. Der sechste Infektionsversuch wurde ausgeführt am 22. Juli, bei äußerst trockener, heißer Witterung, auf den Sorten Kadarka, Furmint, Hárslevelü, Wälsch-Riesling. Der Erfolg war nach 6—7 Tagen ersichtlich, aber die Ölflecken entwickelten sich nur schwach und die Konidien traten selbst unter der feuchten Glocke nur spärlich hervor. Die große Hitze bewirkt also nicht nur ein langsames Versiechen der schon vorhandenen Ölflecken, sondern erschwert evtl. auch das Zustandekommen und die Entwicklung neuer Infektionen.

3. Feststellung der Inkubationszeit der *Peronospora*-Krankheit.

Der diesjährige Sommer in Budapest war für die Versuche und besonders auch zur Feststellung der Inkubationsdauer sehr günstig, weil es in der Versuchsanlage nur in größeren oder kleineren Intervallen und zumeist nur je einen Tag lang regnete.

In diesem Sommer wurde in der Versuchsanlage die *Peronospora* zum ersten Male am 9. Juni beobachtet, und zwar nur sehr spärlich.

An diesem Tage waren auch schon Konidienrasen sichtbar, so daß die Ölflecken sicherlich schon einige Tage früher, etwa am 6. Juni zum Vorschein gekommen waren. Am 5. Juni hatte es geregnet, und dies hat die Ausbildung der Ölflecken und das Heraustreten der Konidien entschieden beschleunigt. Die natürliche, spontane Infektion dürfte etwa am 23. bis 25. Mai stattgefunden haben, an welchen Tagen es tatsächlich regnete. So kann für diesen Fall die Inkubationszeit auf etwa 13—14 Tage angenommen werden. Auf Grund der meteorologischen Daten, insbesondere der Wärmeschwankungen, kann es als wahrscheinlich angenommen werden, daß ferner die Ölflecken der am 30. Mai und 1. Juni bei anhaltendem Regen stattgehabten Infektionen am 11. bis 12. Juni zum Ausbruch kamen, was einer Inkubationszeit von 12—14 Tagen entspricht.

Der nächstfolgende regnerische Tag war der 5. Juni und die Ölflecken der mutmaßlich an diesem Tage stattgefundenen Infektionen kamen am 17. Juni, also nach 12 Tagen, zum Ausbruch.

Der folgende regnerische Tag war der 10. Juni und die mutmaßlich dieser Infektion entsprechenden Ölflecken erschienen am 20. bis 21., also nach 10—11 Tagen. Dieselbe Inkubationsdauer war auch bei der künstlichen Infektion zu beobachten.

Bei der am 12. Juni bei trockenem Wetter durchgeführten künstlichen Infektion konnten 9½ Tage als Inkubationsdauer festgestellt werden.

Am 14. Juni war wieder Regen, und die Ölflecken wurden am 23., also nach 9 Tagen sichtbar.,

Vom 17. bis zum 24. Juni wurde es allmählich wärmer, das Minimum schwankte zwischen 12—18° C und das Maximum zwischen 23—30° C; somit ist die rasche Ausbildung der Ölflecken der warmen Witterung zuzuschreiben.

Die Ölflecken der am 2. und 3. Juli bei regnerischem Wetter erfolgten natürlichen und künstlichen Infektion zeigten sich am 9. bis 11. Juli, zwei Flecken waren aber schon am 8. sichtbar auf der Sorte Blaufränkisch.

Der Erfolg der am 4. Juli stattgefundenen künstlichen Infektion konnte auf den amerikanischen Sorten schon nach kürzerer Zeit bemerkt werden in Form von schneller erkennbaren, braunen Punkten. Der Erfolg der am 22. Juli stattgefundenen künstlichen Infektion war nach 6—7 Tagen sichtbar, was der Wirkung der größeren Wärme zuzuschreiben ist, denn das Minimum betrug nunmehr 14—19° C, das Maximum 29—36° C.

Aus all dem ist ersichtlich, daß mit dem Fortschreiten des Sommers die Inkubationszeit kürzer wird, worüber folgende Tabelle einen Überblick bietet:

Zeit der Infektion	Zeit des Erscheinens der Krankheit	Inkubationsdauer
23.—25. Mai	5.—6. Juni	13—14 Tage
30. Mai—1. Juni	12. Juni	12—13 „
6. Juni	17.—18. Juni	11—12 „
10. „	20.—21. „	10—11 „
12. „	22. „	9½ „
14. „	23. „	9 „
2. Juli	9.—10. Juli	6—7—8 „
3. „	10.—11. „	7—8 „
4. „	10.—11. „	5½—6—7 Tage
22. „	28.—29. „	6—7 Tage

Anfangs und Mitte Mai muß die Inkubationsdauer der kühleren Witterung wegen noch länger sein. Wenn in der Versuchsweinanlage der Anstalt darüber auch keine Beobachtungen angestellt werden konnten, so war es doch auf Grund der aus Ungarn in großer Anzahl eingeschickten peronospora-kranken Blätter ermöglicht, auch über diesen Punkt eine Berechnung auszuführen. Das erste peronospora kranke Blatt wurde nämlich am 18. Mai eingeschickt, und da in der betreffenden Gegend am 1. und 2. Mai regnerisches Wetter war, so ist anzunehmen, daß die Inkubationszeit 14 bis 16 Tage dauerte.

* * *

Es muß nun auch über den Ausbruch der Krankheit ohne Ölflecken etwas gesagt werden. Es kommt oft vor, daß die Krankheit von einem Tag zum andern auf einmal plötzlich zum Ausbruche gelangt, besonders nach einem regnerischen oder nebligem Tage, an dem von der Krankheit noch gar nichts zu sehen war. In solchen Fällen meint man, die Infektion sei an dem betreffenden, vorhergehenden, nassen Tage geschehen. Daß aber diese Meinung irrig ist, läßt sich durch Versuche nachweisen.

Es wurde schon oben erwähnt, daß auf abgeschnittenen Trieben die Konidienrasen nach vier Tagen sichtbar wurden, ohne daß sich Ölflecken

gezeigt hätten. Diese Erscheinung kann auch in der Natur eintreten, wenn nach der Infektion warme Regen fallen.

Wenn aber nach der Infektion mehrere Tage lang trockenes Wetter ist und dann Regen eintritt, so kann die Krankheit um 1—2, selbst um 3 Tage früher ausbrechen, als dies auf Grund der Entwicklungsdauer der Ölflecken zu erwarten wäre. Namentlich wenn anfangs Juni 7—8 Tage nach erfolgter Infektion anhaltender Regen eintritt, so bricht die Krankheit nicht erst, wie sonst, nach 10—11, sondern schon nach 8—9 Tagen aus, und zwar ohne vorherige Entwicklung der Ölflecken. Im Juli kann die Inkubationsdauer infolge der Regenfälle sogar auf 5—6 Tage beschränkt werden!

In allen solchen Fällen muß es also 5—8 Tage vor dem die Auslösung der Krankheit bewirkenden Regen auch einmal geregnet haben, als nämlich die Infektion stattfand, und der letzte Regen beschleunigte bloß den Ausbruch der Krankheit.

Es bedarf einiger Zeit, bis das Mycelium des Pilzes sich ordentlich ausbreitet und genügend erstarkt, um zur Fruchtbildung fähig zu sein. Deswegen ist die Konidienbildung ohne vorhergegangene Ölfleckenbildung niemals so dicht und erstreckt sich auch nicht so weit, als dann, wenn das Mycelium eine genügende Inkubationszeit hindurch sich gut entwickeln und dementsprechend Ölflecken hervorrufen konnte. Die Ölflecken deuten also immer darauf hin, daß das Mycelium nach erfolgter Infektion rasch erstarkt und sich im Blatt gut und üppig ausbreitet.

Die Inkubationsdauer findet in der Regel durch die Ausbildung der Konidien ihren Abschluß, und die französischen Pathologen zählen nur bis zu diesem Tage. Es kommt aber oft vor, daß die Ölflecken infolge Mangels an genügender Feuchtigkeit nicht bald zum Vorschein kommen. In unserer Versuchsanlage konnten wir feststellen, daß das Mycelium unter Umständen in den Blättern nicht nur 7—14 Tage, sondern selbst auch 3—4, ja sogar 7 Wochen lang entwicklungsfähig bleibt und erst nach dieser Zeit die Ölflecken oder die Konidien erscheinen. Dies konnten wir auch auf experimentellem Wege beweisen. —

4. Künstliche Infektion auf abgeschnittenen Trauben.

Eine künstliche Infektion der Trauben ist bisher noch nicht versucht worden. Wegen der praktischen Wichtigkeit der Frage — da ja die Trauben durch die *Peronospora* auch sehr viel leiden — ist sie eines eingehenden Studiums wert.

Die unter natürlichen Verhältnissen hervorgerufene Krankheit der Trauben habe ich vor mehreren Jahren eingehend untersucht¹⁾, und ich konnte feststellen, unter was für Umständen die Erkrankung und Infektion der Trauben möglich ist. Es fehlte aber noch die experimentelle Beweisführung, was ich jetzt nachholen möchte. Es sei gleich vorhinein bemerkt, daß durch das Experiment im vollen Maße die Richtigkeit derjenigen Schlußfolgerungen erwiesen wurde, die ich auf Grund der Untersuchung der kranken Trauben seinerzeit gewonnen hatte.

¹⁾ Istvánffi, Gy., *A Peronospora okozta fűrtbántalmakról*. [Über den Angriff der Blütenstände und Beeren durch die *Peronospora*.] Budapest. 1908. p. 1—21.

—, *A szőlő virágzatának fertőzése a Peronospora által s a védekezés*. [Die Beschädigung der Blütenstände der Weinrebe durch die *Peronospora* und der Kampf dagegen]. (M. kir. Ampelologiai Intézet Évkönyve. Budapest. III. 1909. p. 47—61.)

Die künstlichen Infektionsversuche wurden auf 30 Trauben von verschiedener Entwicklung ausgeführt, u. zw. wurden die Trauben vom Stock abgeschnitten. Ein Teil der Trauben befand sich noch mehr oder minder knapp vor der Blüte (Gescheine), ein anderer Teil trug Beeren von kaum Schrotkorngröße, ein anderer von etwa Erbsengröße. Die Sorten waren: Hárslevelü, Kadarka, Blaufränkisch, Furmint, Wälsch-Riesling, Slankamenka, Grünsylvaner, Steinschiller und Semillon blanc usw. Die mit ihrem Trieb ins Wasser gestellten Trauben wurden auf ihrer ganzen Oberfläche mit Konidien enthaltendem Wasser bespritzt und dann in eine wassergesättigte Atmosphäre (von 90 Proz. relativer Feuchtigkeit) gebracht.

Am vierten Tage nach der Infektion erschienen an sämtlichen Trauben die Peronosporakonidien, wenngleich nur spärlich; eine gelbe Verfärbung der Blüten und Beeren (was sonst üblich ist), war dabei nicht zu beobachten. Dieser Fall entspricht also dem Ausbruche der Krankheit ohne Ölflecken bei wassergesättigter Atmosphäre.

An den noch nicht aufgeblühten Trauben erschienen die Konidienträger auf allen Teilen, also auf dem Stiele und auf dem Geäst der Traube sowie auf den Stielchen der Blüten und auf deren Blumenblättern; ja zwischen der Blüte und ihrem Stielchen erschien ein ganzer Kranz von Konidienträgern.

Bei den abgeblühten und schon fruchtenden Trauben — mit Beeren von Schrotkorn- und Erbsengröße — erschienen die Konidienträger hauptsächlich auf den Stielchen der Beeren, sonst waren nur wenige zu konstatieren.

Es verdient besondere Beachtung, daß der Erfolg der Infektion auch bei den abgeschnittenen Trauben sich am vierten Tage zeigte, gerade so wie bei den abgeschnittenen Blättern.

5. Künstliche Infektion auf Trauben im Freien.

Nach den Regentagen vom 2. und 3. Juli wurden auch im Freien Infektionsversuche auf Trauben ausgeführt, u. zw. auf noch nicht geöffneten und auf geöffneten Blütentrauben (sog. Martinitrauben), sowie auf Fruchttrauben mit Beeren von Schrotkorn- und Erbsengröße.

Die zum Versuche ausgewählten Trauben wurden mit Wasser befeuchtet und mit Konidien bestreut und dann in Zylindergläser getan, die innen mit feuchtem Fließpapier überzogen waren.

Die ersten Spuren der Peronospora an den infizierten Trauben zeigten sich nach Verlauf von 12—14 Tagen, indem teils die Stielchen eine braune Farbe annahmen, teils die Beeren sich wachsgelb verfärbten oder verblaßten und außerdem dunkelbraune Streifen im Fleisch der Beeren zu konstatieren waren. Die Bräunung nahm mehr und mehr zu, bis schließlich nach weiteren 5—7 Tagen die Beere zusammenschrumpfte und vertrocknete; ähnlich geschah es auch mit den meisten Beerenstielchen an den jüngeren Trauben. An ein und derselben Traube trat die Bräunung der Beeren nicht so gleichmäßig und pünktlich ein wie die Ölflecken an den Blättern, sondern es zeigten sich diesbezüglich Unterschiede von 2—3, selbst von 4—5 Tagen, was so zu erklären ist, daß die Schwärmsporen teils in den Kamm (Achse des Blütenstandes), teils in die Stielchen, teils in den Blütenboden sich einbohren.

Am 7. Juli wurde ein neuer Versuch ausgeführt, u. zw. wurden nun die Trauben an gewissen, bezeichneten Stellen infiziert, indem die betreffenden Stellen (der vorher etwas abgebeerten Traube) mit Watte bedeckt wurden, die mit Konidien enthaltendem Wasser durchtränkt war. Zugleich wurden die Trauben wieder in Glasglocken feucht gehalten.

Die Inkubationszeit konnte für die Infektion an den verdickten Enden der Beerenstielchen (Krone) auf 12—13 Tage, an derjenigen Stelle, wo die Beerenstielchen vom Kamme sich abzweigen (an der Basis der Stielchen), auf 14—15 Tage, am Kamme 1 cm weit über der Basis der Stielchen auf 17—18 Tage festgestellt werden, indem nämlich wachsgelbe Verfärbung und Bräunung der Beeren nach soviel Tagen sichtbar wurde. Das ist das vom verdickten Ende der Beerenstielchen (Krone) eindringende Mycel braucht 12—13 Tage, um sich in der Beere soweit zu vermehren, daß dies an der Verfärbung der Beere sichtbar werde; je weiter die Infektionsstelle von der Beere entfernt, desto länger dauert die Inkubationszeit. Wenn wir die Länge der vom Mycel durchlaufenen Bahn berechnen, was im letztangeführten Falle (wo nämlich die Infektionsstelle etwa 1 cm oberhalb der Basis der Ansatzstelle des Stielchens am Kamme sich befindet) im ganzen etwa 2 cm ausmacht, so folgt daraus, daß das Mycel in den Geweben täglich um 2.8 mm weiter vordringt, was für eine Stunde einen Weg von $\frac{120}{1000}$ mm (= 120 μ) ausmacht.

Daß die Inkubationszeit mit der wachsenden relativen Luftfeuchtigkeit proportional abnimmt, konnte auch für die Traubeninfektion beobachtet werden. Im feuchten Treibkasten nämlich kommen schon nach Verlauf von 1—2 Tagen die Konidienträger zum Vorschein, wenn die betreffenden Trauben seit 7—8 Tagen infiziert waren. Wenn also am 7. oder 8. Tage nach der Infektion ein starker Regenfall oder ein ausgiebiger Nebel sich einstellt, so zeigen sich die Konidienträger auch auf den Trauben ohne vorhergegangene, auffallende krankhafte Veränderung (Verfärbung) derselben. An den ganz jungen Beerentrauben kann die Konidienbildung auf alle Teile der Traube sich erstrecken; bei den ältern Trauben mit Beeren von Erbsengröße konnten nur auf den Beerenstielchen und dem Kamme Konidienträger beobachtet werden, auf den Beeren selbst aber nicht, was ja bekanntlich überhaupt selten vorkommt.

Auf Grund der erwähnten Verkürzung der Inkubationszeit, infolge anhaltenden starken Nebels oder Regens, läßt sich nun die von den Weinbauern besonders in den Jahren 1909 und 1910 in Ungarn oft beobachtete Erscheinung der nach Nebel- oder Regenwetter erfolgenden plötzlichen Erkrankung der Trauben erklären. Bei solchen Fällen kommt also nicht, wie dies in Praktikerkreisen angenommen wird, die durch den betreffenden Nebel oder Regen hervorgerufene Infektion plötzlich zum Ausbruch, sondern durch den Nebel oder Regen wurde bloß eine frühere, in den Trauben schon seit mehreren Tagen latente Infektion rascher ausgelöst; durch den Nebel oder Regen wurde also nur der Ausbruch gefördert.

6. Die Ölflecken bei nassem und trockenem Wetter.

Das Ende der Inkubationszeit wird dadurch bestimmt, daß an den infizierten Stellen des Rebenblattes eine grünlichgelbe Verfärbung eintritt („Ölflecken“). Die grünlichgelben Flecken erscheinen fast ohne Übergangsstadium plötzlich (bei feuchtem Wetter); bei relativer Trockenheit dagegen kann eine allmähliche Verfärbung beobachtet werden. Die jungen Ölflecken weisen eine blaßgelblichgrüne Farbe auf und verbleiben in diesem Zustande bei feuchtem Wetter mehrere Tage lang; bei relativ trockenem Wetter nehmen sie nach 2—3 Tagen eine schmutzig grünlichockergelbe Farbe an, oft mit einem rötlichen oder gelblichbraunem Ton. Bei großer Trockenheit trocknen die Flecken bald ein, indem die angegriffenen Gewebe rote oder braune Farbe

aufnehmen und schnell absterben; die Vertrocknung kann in diesem Falle auch eintreten ohne vorhergehende Konidienbildung, wogegen bei mildem, feuchten Wetter die Vertrocknung der Ölflecken in der Regel erst nach stattgehabter Konidienbildung vor sich geht.

Der bräunliche Ton der Ölflecken zeigt sich nicht auf einmal an der ganzen Oberfläche, sondern zuerst längs der größern, dann längs der dünnern Adern, so daß auf einem schmutzig gelbgrünen Untergrund eine bräunliche Zeichnung sichtbar wird. Bei manchen Sorten nehmen die Ölflecken gegen den 4. bis 5. Tag zu einem purpurroten Ton an. Besonders oft und in großem Maße ist dies bei der Sorte Kadarka zu beobachten, sie kommt aber auch bei Furmint und Semillon blanc vor.

Bei milder Witterung und genügend feuchter Luft erscheint auf den Ölflecken nach Verlauf von 2—3 Tagen ein spärlicher, kaum weißlicher Rasen von Konidienträgern. Bei trockenem Wetter erscheinen dagegen die Konidienträgerrasen erst nach 6—8 Tagen, und zwar hauptsächlich nur auf den behaarten Sorten; auf den Sorten mit verhältnismäßig kahlen Blättern erscheinen die Konidienrasen bei trockenem Wetter selbst erst nach 10—20 Tagen noch so spärlich, daß sie mit freiem Auge gar nicht zu erkennen sind, oder sie kommen überhaupt nicht zum Vorschein.

Hier mag noch ein interessanter Fall Erwähnung finden, der ebenfalls auf direkter Beobachtung beruht und praktisch wichtig ist.

Die Ölflecken der am 2. und 3. Juli stattgehabten spontanen Infektion in der Anlage der Anstalt wurden am 9. bis 11. Juli sichtbar, die Konidienträger jedoch konnten der hochgradigen Trockenheit (40 Proz. relative Feuchtigkeit) wegen nicht hervorbrechen. Aber auf einem Rebstock, der am 19. Juli abends mit einem Glaskasten überstürzt und begossen ward (relative Luftfeuchtigkeit 90 Proz.), kamen die Konidienrasen am folgenden Morgen zum Vorschein; ebenso erschienen sie auch auf den abgeschnittenen und unter die feuchte Glocke gebrachten Blättern in einigen Tagen. Der Ausbruch der Konidien erfolgte dabei nicht auf der ganzen Fläche der Ölflecken, sondern in vereinzelten kleinern Partien teppichartig, wohl deswegen, weil das Gewebe der Ölflecken schon teilweise vertrocknet und abgestorben war.

Am 29. Juli (nachmittags) war ein ziemlich starker Regen (von 7.5 mm), jedoch ohne nachfolgende Konidienbildung auf den schon drei Wochen alten Ölflecken; dagegen zeigte sich eine spärliche, teppichartige Rasenbildung unter der feuchten Glocke auf abgeschnittenen Blättern noch am 31. Juli. Das Mycel der *Peronospora* war somit nach einer dreiwöchentlichen Dürre noch nicht gänzlich abgestorben und spärliche Konidienrasen wären allem Anschein nach auch im Freien erschienen, wenn der Regen längere Zeit mindestens einen ganzen Tag, angedauert hätte.

Die bei trockenem Wetter erscheinenden Konidienrasen sind kaum weißlich, dagegen sind die bei feuchter Witterung hervorbrechenden Rasen dicht wie Watte und rein kreideweiß. Bei trockenem Wetter ist nicht nur die Zahl der Konidienträger eine geringere, sondern diese sind auch zwerghaft, bloß 0,1 mm lang und sie tragen auch sehr wenige (nur 1—2 oder höchstens 10—30) Konidien. Dagegen kommt bei feuchtem Wetter eine große Anzahl von Konidienträgern zur Ausbildung, die eine bedeutend größere Länge (von 1 mm) erreichen und durchschnittlich je 200—400 Konidien tragen.

Bei einer Temperatur von 20° C und genügender Feuchtigkeit erscheinen die Konidien auf den Ölflecken im allgemeinen schon nach 10 Stunden.

Bei einer Temperatur von 10° C dagegen sind die Konidienrasen selbst nach 8 Tagen noch recht spärlich. Gelangen aber die in einer Temperatur von 10° C gehaltenen Blätter mit Ölflecken in eine wassergesättigte Luft von 20° C, so brechen die Konidien binnen 10 Stunden kräftig heraus. Deswegen kommen die Konidienrasen bei eintretender Wärme, nach vorher kühlem Wetter, rasch zum Vorschein. Der Ausbruch der Konidienträger erfolgt in der Regel bei Nacht.

Wenn wir die mit Ölflecken behafteten Blätter in eine feuchte Atmosphäre von ständig 30° C bringen, so erscheinen selbst nach 4—5 Tagen keine Konidien, und selbst wenn diese Blätter nachträglich unter eine Temperatur von 20° C gelangen, kommen noch immer keine Konidienträger zur Ausbildung. Die nachteilige Wirkung der erhöhten Temperatur kommt auch im Freien zum Ausdruck, während aber im Freien hohe Tagestemperaturen mit geringen Nachttemperaturen abwechseln können, war dies bei dem Versuche im Thermostat nicht der Fall, also die schädliche Wirkung der ständigen Temperatur von 30° C kam schärfer zum Vorschein.

Aus den im Freien vertrockneten Ölflecken wachsen in feuchter Luft (unter der Glocke) bei 20° C noch immer in 10 Stunden Konidienträger heraus, jedoch nicht aus der ganzen Oberfläche, sondern bloß vom noch grünen Rande der Ölflecken. Diese Erneuerung erfolgt natürlich auf Grund des bei genügender Feuchtigkeit rasch von neuem weiterwachsenden Myceliums und ist aus der Praxis nicht unbekannt.

Wenn wir die Ölflecken 3—4 Tage, nachdem sie sichtbar geworden, mikroskopisch untersuchen, so bemerken wir, daß bei manchem Ölfleck zwischen den Schließzellen der Spaltöffnungen erst nur ganz kleine Erhebungen sich zeigen, wogegen bei anderen etwas älteren Ölflecken aus diesen Erhebungen schon die gut erkennbaren Anlagen der Konidienträger hervorsprossen. Die Konidienträgeranlagen entwickeln sich also an den Schlauchenden des Mycels, die die zwischen den Schließzellen hervorragenden Erhebungen bilden. Gewöhnlich entstehen an einem abgerundeten Schlauchende mehrere Anlagen, so daß die Schlauchenden zu dieser Zeit sternförmige Gebilde darstellen. Bei günstiger Witterung geht die weitere Entwicklung der Konidienträgeranlagen rasch vor sich; bei trockenem Wetter ist die weitere Entwicklung der Anlagen nicht möglich, und gehen solche allmählich zugrunde.

Vom Gesichtspunkte der richtigen Einteilung der Bekämpfung ist es praktisch wichtig, zu wissen, daß der Zeitpunkt der wiederholten Bespritzung dann gekommen ist, sobald die Ölflecken im Erscheinen begriffen sind. Denn wenn ein größerer Regen kommt und die Ölflecken schon reif sind, so brechen die Konidienträger den nächsten Tag unbedingt aus und verursachen durch die reichliche Konidienbildung eine neue Infektion. Haben wir aber auf die ganz jungen Ölflecken gespritzt, so können wir die Reben gegen diesen, durch den Regen ausgelösten Ausbruch der Krankheit und deren Folgen (d. i. gegen eine neue Infektion) beschützen, denn 1. die Konidienträger der jungen Ölflecke konnten noch nicht fruchten, da solche nur in der Anlage vorhanden sind, und 2. zur Zeit, wo die Konidien entstehen und sich verbreiten können, ist die Rebe schon durch die neue Bespritzung mit einem Vorrat vom Bekämpfungsmittel versehen.

Um sicher und möglichst bald festzustellen, ob man es in den verdächtigen Blattflecken tatsächlich mit den jungen Ölflecken der *Peronospora* zu tun hat, bringe man die in der Rebanlage oder im Weinberg noch ganz

spärlich vorgefundenen, verdächtigen Blätter unter eine Glasdecke oder selbst unter einen Teller in warme, feuchte Luft, wobei aber vorher die Blätter mit Wasser gut bespritzt und mit ihrer Oberseite auf ein nasses Tuch oder Saugpapier gelegt werden. Ist tatsächlich die *Peronospora* vorhanden, so verrät sich dies an den Blättern schon nach Verlauf von 24, in seltenen Fällen erst von 48 Stunden dadurch, daß auf der Unterseite des Blattes, an Stelle der gelblichen Flecken Konidienrasen erscheinen, im Falle es nämlich wirkliche Ölflecke waren. Auf Grund dieser, von mir mit der Bekämpfung in Einklang gebrachte Probe weiß dann der Praktiker, daß die Krankheit schon reif zum Ausbruch ist, und daß er deswegen einer neuen Infektion durch schleunigstes Spritzen vorbeugen muß. Wenn wir gleich vom Anfang der Saison an und auch späterhin in diesem Sinne vorgehen und speziell die frühzeitigen Sorten besonders scharf im Auge haben, so können wir in sehr hohem Maße Herr der Krankheit werden.

Dasselbe Verfahren kann auch zur rascheren Feststellung der Trauben-*peronospora* angewendet werden. Denn an den in dieser Art behandelten Gescheinen sind die Konidienträger der *Peronospora* sehr auffallend und leicht erkennbar. Wenn man zu gleicher Zeit auch Sorge trägt, daß das nötige Kupfervitriol in aufgelöstem Zustande bereit ist, so kann das etwa notwendig sich erweisende Bespritzen ohne Zeitverlust vorgenommen werden. Wenn im entgegengesetzten Falle die vermutete Krankheit sich nicht als *Peronospora* erweisen sollte, so erleidet man durch das frühzeitige Auflösen des Kupfervitriols gar keinen wesentlichen Schaden, weil die wässrige Lösung dem Verderben nicht ausgesetzt ist.

7. Untersuchung der Konidienträger und Konidien.

Wie schon vorhin erwähnt wurde, nimmt die Konidienbildung damit ihren Anfang, daß zwischen den Schließzellen der Luftspalten je ein oder mehrere kleinere oder größere, kugelig angeschwollene Mycelschläuche herauswachsen. An deren abgerundetem Ende erscheinen die Konidienträger, und zwar bloß ein bis zwei, oder selbst auch sechs bis acht, die sich sternförmig gruppieren. Wenn die Konidienträger eine gewisse Länge erreicht haben, so verzweigen sie sich, um schließlich die Konidien abzuschneiden. Unter günstigen Verhältnissen gewachsene Konidienträger erreichen in der Regel eine Länge von 1 mm, sie weisen zumeist vier größere und drei kleinere Seitenäste auf. An einem gut ausgebildeten Konidienträger kann die Zahl der abgeschnürten Konidien 200—400 erreichen.

Die bei trockener Luft entwickelten Konidienträger sind nicht nur kleiner (100—200 μ), sondern auch weniger verästelt, indem sie zuweilen nur 1—2 Seitenäste aufweisen; natürlich werden an ihnen bedeutend weniger (10—30), zuweilen auch nur einige Konidien abgeschnürt.

Bei trockener Luft nehmen die Konidienträger oft auch eine abnorme Gestalt an, und auch die Sterigmen können sich z. B. abnorm in die Länge strecken. Bei kühler Temperatur bleiben die Konidienträger oft zwergig, aber die Konidien nehmen eine bedeutende Größe an, sie wachsen zu Makrokonidien aus; ihre Zahl an einem Konidienträger ist aber (10—15) recht gering.

Bei entsprechender Temperatur und Luftfeuchtigkeit können sich die Konidienträger binnen 10—12 Stunden vollkommen entwickelt haben, und nach weiteren 3—4 Stunden sind auch die Konidien ausgewachsen.

Es sei noch erwähnt, daß unter der feuchten Glocke auch an der Ober-

seite des Blattes Konidienträger spärlich zum Vorschein kommen, und zwar nur längs den Blattadern, so daß manchmal das ganze Adernetz des Blattes durch die Konidienträger sich abzeichnet. Bei sehr ausgiebigem oder langanhaltendem Regen konnten wir auch im Freien Konidienträger auf der Oberseite der Blätter finden. In seltenen Fällen kommen die Konidien schließlich auch an sehr jungen Trieben und Ranken zum Ausbruch.

An der Hand diesbezüglicher Versuche konnte festgestellt werden, daß aus den erst einige Stunden alten Konidien überhaupt keine, aus den $\frac{1}{2}$ oder 1 Tag alten nur spärliche, aus den $1\frac{1}{2}$ oder 2 Tage alten Konidien dagegen in den meisten Fällen Schwärmsporen sich entwickeln.

Die Konidien müssen also gleichsam ausreifen, wozu die Konidien der Blattfallkrankheit der Rebe wenigstens $1-1\frac{1}{2}$ Tag notwendig haben.

Auch bei den künstlichen Infektionsversuchen erwies sich das Gleiche, indem die Infektion nur mit $1\frac{1}{2}$, nicht aber mit $\frac{1}{2}$ Tag alten Konidien gelang.

Dieser Umstand hat auch seine praktische Bedeutung! Es ist gut, zu wissen, daß die bei nasser Witterung rasch hervorbrechenden Konidienrasen erst nach Verlauf eines ganzen Tages reif und infektiösfähig werden; sieht man nun sofort zu, die Blätter gegen eine neue Infektion durch Bespritzen zu schützen — wozu man einen ganzen Tag Zeit hat — so erringt man sich gewiß einen namhaften Vorteil.

Werden die Konidien 2—3 Wochen im Zimmer in trockener Luft (von etwa 60 Proz. Feuchtigkeitsgehalt) gehalten und nachträglich in Wasser gebracht, so schlüpfen die Schwärmsporen nach 48 Stunden aus. Aus den im Freien längere Zeit (bei Dürre, etwa 40 Proz. Luftfeuchtigkeit) überdauernden Konidien entschlüpfen die Schwärmsporen ebenfalls nach 48 Stunden, jedoch nur sehr spärlich.

Bei großer Luftfeuchtigkeit wird die Schwärmsporenbildung durch vorhergehende Teilung in den Konidien schon auf den Konidienträgern selbst vorbereitet. Die Konidien müssen also nicht unbedingt längere Zeit im Wasser durchfeuchtet werden, um die Schwärmsporen entstehen zu lassen, sondern in dem Falle, wo die vorbereitende Teilung schon auf den Konidienträgern stattgefunden hat, genügen 2—4 Stunden Aufenthalt im Wasser, um die Schwärmsporen ausschlüpfen zu lassen. Also selbst nach kurzem Regen, wenn die Tropfen nach 2—3 Stunden eintrocknen, kann durch die ausgereiften (also schon wenigstens $1-1\frac{1}{2}$ Tag alten) und geteilten, vorbereiteten Konidien eine Infektion hervorgerufen werden!

Schließlich muß noch — ebenfalls wegen seiner praktischen Bedeutung — des Umstandes Erwähnung getan werden, daß solche Konidien, die gelegentlich eines schwächeren Regens erscheinen, bei darauffolgendem trockenem, heißem und windigem Wetter (mit 30—40 Proz. Luftfeuchtigkeit) leicht vertrocknen und absterben. Wenn also im Hochsommer während der Dürre gelegentlich kurzer Regenfälle die spärlichen Konidienrasen auch tatsächlich zum Vorschein kommen, so bewirken sie dennoch keine neuen reichlichen Infektionen, denn sie sterben zum größten Teil ab, bevor sie sich endgültig entwickeln konnten.

8. Empfänglichkeit der Wirtspflanze.

Wenn die Infektion in einem Falle gelingt, in einem anderen aber mißlingt, so hängt dies nicht allein vom Parasiten und von den mitspielenden äußeren Faktoren ab, sondern der Zustand der Wirtspflanze, des Reb-

blattes oder der Traube ist auch mehr oder minder maßgebend. Als Resultate unserer diesbezüglichen Versuche konnten wir feststellen, daß von dem Wassergehalt der Wirtspflanze auch ihre Empfänglichkeit abhängig ist, in dem Sinne, daß Wassergehalt und Empfänglichkeit in gleichem Verhältnis zueinander stehen. Je größer der Wassergehalt in den Geweben der Wirtspflanze, je dünner der Zellsaft, je größer der Wassergehalt im Plasma und je mehr Wasser in den Zellhäuten imbibiert ist, desto größer ist die Empfänglichkeit der Wirtspflanze oder ihrer betreffenden Organe, also desto größer die Gefahr einer Ansteckung.

Die bisherigen Erfahrungen haben gelehrt, daß eine plötzliche Abkühlung der Luft gewöhnlich eine starke Empfänglichkeit des Weinstockes für die *Peronospora* nach sich zieht; man mußte also die erhöhte Empfänglichkeit der plötzlich fallenden Temperatur zuschreiben. Ich sehe aber die erhöhte Empfänglichkeit dadurch erklärt, daß infolge der Abkühlung, besonders bei gleichzeitiger Bewölkung, Regen, Tau oder Nebel die Transpiration des Rebstockes stark herabgesetzt wird und sogar auch die Assimilation Abbruch erleidet, infolgedessen der Wassergehalt der ganzen Pflanze und aller ihrer Gewebe stark zunimmt.

Dagegen verursachen alle diejenigen Einflüsse, die den Wassergehalt herabsetzen, einen Rückfall in der Vegetation der schon vorhandenen *Peronospora*, und vermehren im allgemeinen die Widerstandsfähigkeit der Weinrebe gegen diesen Parasiten.

B u d a p e s t 1911.

Nachdruck verboten.

Loranthus sphaerocarpus auf Dracaena spec.

Ein Fall des Parasitierens einer Loranthacee auf einer Monokotyle.

Zugleich ein Beitrag zur näheren Kenntnis des Loranthaceen-Haustoriums.

Von **Federico Arens.**

Mit 1 Taf. u. 18 Fig. i. Text.

Loranthus sphaerocarpus gehört der Familie der Loranthaceen an, der wir jene halbparasitischen, dikotylen Sträucher zuzählen, die, durch eigentümliche Saugorgane, Haustorien genannt, mit den Leitungsbahnen ihrer Wirtspflanzen verbunden, von diesen einen Teil ihrer Nahrung beziehen, während sie durch ihren Chlorophyllgehalt zu selbständiger Assimilation befähigt sind.

Während die Familie der Loranthaceen in der europäischen Flora nur durch wenige Arten — *Viscum album* und *Viscum cruciatum*, sowie *Loranthus Europaeus* und *Arceuthobium Oxycedri* — vertreten ist, tritt sie in den tropischen Ländern in großer Fülle und reicher Artenzahl auf.

Diese Schmarotzergewächse befallen die verschiedensten Pflanzenarten und scheinen in Bezug auf ihre Nährpflanzen wenig wählerisch zu sein. So stellte Koernicke für javanische Loranthaceen fest, daß von diesen „anscheinend alle Bäume und Sträucher befallen werden, deren Zweigoberfläche keine mechanischen Hindernisse bietet, wie zu starke Borkenbildung, Verkieselung und schnelles Abstoßen der Borkenlagen... Führen von harzigen oder bitteren, adstringenten Stoffen, von scharfen Milchsäften bilden keinen Hinderungsgrund für das Eindringen dieser Parasiten. Auch auf dicht-

schattigen Bäumen können sich Loranthaceen ansiedeln, doch nur an den dem Licht besonders exponierten Zweigspitzen“.¹⁾

In der Literatur findet sich demgemäß eine große Anzahl von Wirtspflanzen verzeichnet, die von Loranthaceen besiedelt werden²⁾; auffallenderweise sind darunter aber keine positiven Angaben über das Vorkommen auf Monokotylen.

Bis vor kurzem war man vielmehr allgemein der Ansicht, Monokotyledonen würden von Loranthaceen nicht befallen.³⁾ Wohl hatte Korthals⁴⁾ junge Keimlinge auf Palmen und Dracaenen beobachtet, doch bemerkte er, daß diese bald zugrunde gingen, da die Würzelchen nicht eindringen.

Neuerdings ist es aber Koernicke gelungen, Loranthaceen auch auf monokotylen Gewächsen nachzuweisen⁵⁾. Er fand bei seinem Aufenthalte in Java einmal ein kleines Loranthus-Exemplar, das einem Juniperus-Strauche aufsaß, und dessen Wurzeln auf eine epiphytisch dem Juniperus aufsitzende Orchidee (Thrixspermum spec.) übergingen, mit deren Blättern und Wurzeln sie durch Senker in Verbindung traten. Neben dieser Orchidee zeigte sich im botanischen Garten zu Buitenzorg ein mit Cordyline spec. Congo bezeichneter Monokotylen-Strauch von Loranthaceen-Büschen in allen Entwicklungsstufen stark befallen. Neben zahlreichen Keimlingen fanden sich da auch größere, zum Teil blühende und fruchtende Exemplare, die mit ihren Saugwürzelchen in engste Verbindung mit dem Nährwirt getreten waren.

Dieser Fund erweckt nun ein besonderes Interesse, da eine Untersuchung der Ansatzstellen des Schmarotzers an seinen Wirt zu der Hoffnung berechtigt, hier über eine Reihe von Fragen Aufklärung zu erhalten. Handelt es sich doch um den Anschluß an eine monokotyle Pflanze von wesentlich anderem Bau, als ihn die bisher untersuchten dikotylen Wirtspflanzen aufweisen.

Bildet sich hier der anderen Verteilung der Gefäßbündel gemäß das Haustorialgewebe anders aus als auf Dikotyledonen — wie dieses zum Beispiel von Solms-Laubach⁶⁾ für die Haustorien von Thesium beobachtet wurde, im Falle sie Wurzeln monokotyler oder dikotyler Pflanzen aufsaßen — oder treten keine wesentlichen Änderungen ein? Mit welchen Mitteln erreicht der Parasit den Anschluß an die durch eine Gefäßbündelscheide stark bewehrten Leitungsbahnen des Wirtes? Vor allem aber könnte hier am ersten die Frage entschieden werden, ob der Parasit nicht auch mit

¹⁾ Koernicke, M., Biologische Studien an Loranthaceen. (Annal. du Jardin Bot. de Buitenzorg. Ser. 2. Suppl. 3. 1910. p. 697.

²⁾ Vergl. hierzu: Korthals, P. W., Verhandeling over de op Java, Sumatra en Borneo verzamelde Loranthaceae. (Verhandel. v. het Bataviaasch Genootschap v. Kunst. en Wetensch. Deel. 17. Batavia 1839. p. 226.

Miquel, F. A. W., Flora van Nederl. Indie. Deel. 1. Afd. 1. 1860. p. 804. f. f.

Scott, J., Loranthaceae, the Mistletoe ordre, their germination and mode of attachments. (Notes on Horticult. in Bengal. Nr. 2. Journ. of the Agricult. a. Horticult. soc. of India. Vol. 2. Pars 2. Calcutta 1871). (Im Auszug mitgeteilt von H. Grafen zu Solms-Laubach, Bot. Zeitg. 32. Jahrg. 1874. p. 120).

³⁾ Eichler, A. W., Loranthaceae. In: Martius: Flora Brasiliensis. Vol. 5. Pars 2. 1862. p. 7.

⁴⁾ Korthals, P. W., l. c. p. 223.

⁵⁾ Koernicke, M., Biolog. Studien. p. 684.

⁶⁾ Solms-Laubach, H. Graf zu —, Über den Bau und die Entwicklung der Ernährungsorgane parasitischer Phanerogamen. (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 6. 1868. p. 547. f. f.)

den die Assimilate leitenden Bahnen der Wirtspflanze in Verbindung tritt, da ein solcher Anschluß — wenn vorhanden — mit Rücksicht auf den konzentrisch-amphivasalen Bau der Gefäßbündel des Wirtes nicht zu übersehen wäre.

Zur Untersuchung dieser Verhältnisse forderte mich Prof. Dr. M. Koernicke auf, und stellte mir sein diesbezügliches Material bereitwilligst zur Verfügung. Hierfür sowie für die freundliche Beihilfe und Anregungen, die er mir bei Ausführung der Arbeit stets gewährte, spreche ich ihm meinen verbindlichsten Dank aus.

Entwicklung des Loranthus.

Die beerenartigen Scheinfrüchte von *Loranthus sphaerocarpus* enthalten, wie die meisten Loranthaceen-Früchte, einen klebrigen Stoff, das Viscin¹⁾, das das Anhaften der „Samen“ an die Rinde der Wirtspflanzen bewirkt. Infolge der innigen Verbindung mit dem Wirt ist der *Loranthus*-Strauch nun zeitlebens auf seine Wirtspflanze angewiesen, und bedingt deren Tod auch seinen Untergang. Zur Erhaltung der Art ist es daher unbedingt erforderlich, daß die Samen des Schmarotzers möglichst auf neue Wirtspflanzen gelangen und hier zur Keimung kommen können. Eine selbständige Übertragung der klebrigen Samen von der Mutterpflanze auf einen neuen Standort ist aber für die Loranthaceen äußerst schwierig, da ihre Früchte bis auf die weniger Vertreter²⁾ geeigneter Fortbewegungsmittel entbehren. Wohl können ihre schleimigen Samen durch Herabfallen von einem höheren Standorte aus auf einen niedrigeren Zweig desselben Baumes gelangen, doch bei dieser Verbreitungsweise würden die neu entstandenen Pflanzen mit dem Tode ihres Wirtes zugleich mit der Mutterpflanze ihr Ende finden, es sei denn, daß sie zufällig den Ast eines benachbarten Baumes getroffen und hier ihnen zusagende Keimungsbedingungen gefunden haben. Unter diesen Umständen kommen nun für die weitaus meisten Loranthaceen als Verbreiter Vögel in Betracht, denen die fleischige Hülle zur Nahrung dient, während sie die teils noch klebrigen Samen durch Abwetzen der Schnäbel an den Zweigen der Umgebung festheften³⁾ oder aber mit der aufgenommenen Nahrung die Samen unverdaut wieder von sich geben, da die Kerne den Darmkanal dank der sie umhüllenden Viscinschicht vielfach unversehrt und noch keimfähig durchwandern.

Vorstehendem im besonderen verdanken die Loranthaceen ihre große Verbreitung in den verschiedensten Gebieten.

Unter günstigen Bedingungen keimt der Schmarotzer bald aus.⁴⁾ Das negativ phototropische hypokotyle Glied streckt sich in die Länge, wächst — wie auch der Keimling angeheftet sein mag — dem Wirtsaste zu und legt sich mit seinem nun zu einer Haftscheibe auswachsenden Ende fest an,

¹⁾ Tomann, G., Vergl. Untersuchungen über die Beschaffenheit des Fruchtschleimes von *Viscum album* L. und *Loranthus europaeus* L. und dessen biolog. Bedeutung. (Sitzber. d. K. Ak. d. Wiss. Wien. Math.-Nat. Kl. Bd. 115. Abt. 1. März 1906).

²⁾ Johnson, T., *Arceuthobium Oxycedri*. (Ann. of Bot. Vol. 2. 1888. Nr. 6.)

Peirce, G. J. The dissemination and germination of *Arceuthobium occidentale* Eng. (Ann. of Bot. Vol. 19. 1905. Nr. 73.)

³⁾ Koernicke, M., Biolog. Studien. p. 674.

⁴⁾ Wiesner, J., Vergleichende physiol. Studien über die Keimung europäischer und tropischer Arten von *Viscum* und *Loranthus*. (Pflanzenphysiol. Mitteilungen aus Buitenzorg. 4 Sitzber. d. K. Akadem. d. Wiss. Wien. Abt. 1. Bd. 103. 1894.

wobei die Randzellen durch eine klebrige Ausscheidung auf das innigste mit der Unterlage verkittet werden und so dem in den Nährast eintretenden Senker beim Durchbruche den nötigen Widerhalt verleihen. Indem sich die äußeren Zellen etwas strecken, entsteht in der Mitte der Haftscheibe eine Höhlung. Aus deren Mitte tritt ein Senker, der die erweichte Rinde des Wirtes durchbricht und dessen Holzkörper zustrebt. Hier breitet er sich in der Kambiumschicht scheibenförmig aus und sucht mit den wasserleitenden Bahnen des Wirtes in Verbindung zu treten. Erreicht der Senker die Gefäße des Wirtes, so ist sein Fortkommen gesichert.

Inzwischen hat sich das bisher noch der Rinde anliegende Keimpflänzchen aufgerichtet und nimmt jetzt eine zum Nähraste senkrechte Stellung ein. Die ersten Blattpaare werden entfaltet, und dann entstehen oberhalb der Haftscheibe endogen die sogenannten „Rindenwurzeln“.

Während diese bei unseren einheimischen Lorantheen innerhalb der Wirtsrinde fortwachsen, verlaufen sie bei *Loranthus sphaerocarpus* wie bei den meisten tropischen Lorantheen außerhalb des Nährastes auf dessen Oberfläche, sich ihm fest anschmiegend und zum Teil mit ihm verkittet. An ihrer Unterseite bilden sich Haftscheiben, aus denen wiederum zwecks Nahrungsaufnahme Gewebemassen in den Nährast eindringen und so eine innige Verbindung zwischen Schmarotzer und Wirtspflanze herstellen.

Von Zeit zu Zeit stirbt die Wurzelspitze eine Strecke weit ab; unterhalb dieses Punktes bildet sich dann seitwärts ausbiegend eine neue Wurzel, die ihrerseits nach einiger Zeit in gleicher Weise absterben kann, um wieder von einer neuen Wurzel ersetzt zu werden; so wird den meist geradlinig weiterwachsenden Schmarotzerwurzeln die Möglichkeit geboten, eine größere Anzahl der Leitungsbahnen des Wirtes in Anspruch zu nehmen.

Die verschiedene Ausbildung des Wurzelsystems hängt offenbar zusammen mit den verschiedenartigen Lebensbedingungen, denen die tropischen und europäischen Lorantheen unterworfen sind.

Die tropischen Lorantheen sind bei ihrer überaus üppigen Entwicklung auf ein schnell wachsendes und leistungsfähiges Wurzelsystem angewiesen, das es ihnen ermöglicht, in kurzer Zeit eine möglichst große Anzahl von Leitungsbahnen des Wirtes in Anspruch zu nehmen. Dieses wird ihnen durch die außerhalb der Rinde wachsenden, Haustorien bildenden Wurzeln wesentlich leichter als unseren einheimischen Lorantheen mit ihren intrakortikalen Rindenwurzeln, denen das umgebende Rindengewebe der Wirtspflanze immer wieder beim weiteren Vordringen hindernd entgegentritt. Die europäischen Lorantheen können hingegen infolge ihrer langsamen Entwicklung und der durch ihre mehr xerophytische Ausbildung bedingten geringeren Ansprüche an die Nährwasserzufuhr mit dem langsamer wachsenden, intrakortikalen Wurzelsystem auskommen.¹⁾

Aber auch in anderer Hinsicht erwecken die Rindenwurzeln der Lorantheen unser Interesse. Sie weisen uns nämlich auf den allem Anscheine nach epiphytischen Ursprung dieser phanerogamen Parasiten hin und stellen eine verschieden hohe Entwicklungsstufe in der phylogenetischen Stammreihe dar. Hierauf weist besonders *Haberlandt* hin.²⁾ Er schreibt

¹⁾ Vergl. zu dem betr. Rindenwurzeln Mitgeteilten: *Koernicke*, M., Über die Rindenwurzeln tropischer Lorantheen. (Vortr. gehalt. am 21. Sept. 1909 auf d. Ärzte- u. Naturforscherversamml. zu Köln. Bericht. p. 186/7).

²⁾ *Haberlandt*, G., Eine botanische Tropenreise. 2. Aufl. 1910. p. 177.

diesbezüglich: „Auch manche phanerogamen Parasiten dürften von ursprünglich bloß epiphytischen Vorfahren abstammen. Am sichersten darf man dies wohl von den Lorantheen behaupten... Gewiß war es nur das Bedürfnis, sich mit Wasser und darin gelösten Salzen zu versorgen, welches zu dieser Anpassung, zur Haustorienbildung seitens gewöhnlicher, auf der Rinde dahinkriechender Epiphyten-Luftwurzeln geführt hat... Es ist nun sehr bemerkenswert, daß die unserem relativ trockenen Klima angepaßten einheimischen Lorantheen ihre Wurzeln sofort in die Rinde des Wirtes eindringen lassen und so eine höhere Anpassungsstufe repräsentieren, als der von *Loranthus pentandrus* — (es liegen hier die gleichen Verhältnisse vor, wie sie vorstehend für *L. sphaerocarpus* geschildert wurden) — vertretene Typus. So konnte sich namentlich unsere Mistel als letzter und einziger Vertreter der epiphytischen Phanerogamen durch Parasitismus in unserer Gegend dauernd erhalten.“

An dem vorliegenden Material verlaufen diese Rindenwurzeln meist in der Längsrichtung des Nährastes; nur selten umschlingen sie ihn in steilen Windungen. In einer gewissen Entfernung von ihrer Spitze entspringen ihrer Unterseite in bald kürzeren, bald weiteren Abständen voneinander neue Haftscheiben, aus denen wiederum Senker in das Innere des Nährastes eindringen. Im Gegensatz zu dem ursprünglichen, primären Haustorium werden diese als sekundäre bezeichnet. Wie jenes bilden sie eigentümliche glockenförmige Auswüchse, die in der Längsrichtung der Mutterwurzeln etwas gestreckt, sich da, wo sie dem Nähraste aufliegen, verflachen und größtenteils seitlich etwas um den Ast herumgreifen. Die Berührungsfläche zwischen Wirt und Schmarotzer stellt somit eine um einen Zylinder gelegte Ellipsenfläche dar.

Die Größe der einzelnen Haustorien ist schwankend. Wir finden solche von einigen mm bis zu über 1 cm, und zwar nehmen sie dem Alter entsprechend von der Wurzelspitze nach der Stammbasis hin an Umfang und Länge zu. Zuweilen kommt es vor, daß zwei oder auch mehr bei ihrem Dickenwachstum zu einem dann langgestreckten Haustorium verwachsen.

Untersuchungsmethode.

Um nun den inneren Aufbau der Haustorien kennen zu lernen, müssen wir sie — wie stets in solchen Fällen — in Schnittserien zerlegen, die in drei aufeinander senkrechten Richtungen zu führen sind. Schneiden wir quer zu der Rindenwurzel, so treffen wir das Haustorium längs in Richtung seines kleineren Durchmessers. Diese Schnitte wollen wir im folgenden als *Quer-Längsschnitte* bezeichnen, da sie die Rindenwurzel nebst dem Tragaste quer, das Haustorium aber längs schneiden. Führen wir die Schnitte jetzt senkrecht hierzu in der Ebene, die mit der Längsrichtung der Rindenwurzel zusammenfällt, so erhalten wir wiederum Längsschnitte des Haustoriums, aber diesmal in Richtung von dessen größerem Durchmesser; diese Schnitte werden wir *Radial-Längsschnitte* benennen. Es bleibt uns nun noch die Schnittrichtung tangential der Rindenwurzel und dem Nähraste, aber quer zum Haustorium; so erhalten wir die *Tangential-Querschnitte*.

Zur Untersuchung wurde das Januar 1907 von M. Koernicke im Buitenzorger Garten auf Java gesammelte und teils nach Fixieren mit Alkohol-Eisessig-Chloroform nach Carnoy in Alkohol-Glyzerin, teils direkt in Alkohol aufbewahrte Material verwandt. Zur weiteren Bearbeitung wurde es

in ein Gemisch gleicher Teile Alkohol und Glyzerin gelegt, in dem es mehrere Tage verweilte; diese Art der Zubereitung der harten, stark verholzten Objekte erwies sich als die einfachste und erfolgreichste zur Erlangung günstiger Schnitte. Das Schneiden wurde dann zum Teil aus der Hand, meist aber mit dem Holzmikrotom nach *Vinassa* vorgenommen.

Da nun der Schmarotzer, der zunächst zwar dicht über dem Nährast dahinkriecht, nach dem Eindringen der Haustorien aber infolge des Wachstums von ihm weg in die Höhe gehoben wird, so tritt beim Schneiden leicht ein Lostrennen des Parasiten vom Wirt ein. Um dieses möglichst zu verhindern, wurden ober- und unterhalb des Haustoriums zwischen Gast und Wirt entsprechende Korkplättchen eingekeilt, das Ganze mit Bindfaden fest umwickelt und darauf mit einer Paraffinschicht umgeben, um dieses Gefüge beim Schneiden zusammenzuhalten. Die Schnittfläche wurde stets mit Glyzerin-Alkohol feuchtgehalten; so gelang es, gute Schnitte und Schnittserien zu erhalten. Galt es, recht dünne Schnitte herzustellen, so wurde in Paraffin eingebettetes Material genommen, dessen Schnittfläche vor jedesmaligem Schneiden mit einer Kollodiumschicht überzogen wurde, um die einzelnen leicht auseinanderfallenden Teile des Schnittes in ihrer gegenseitigen Lage zusammenzuhalten. Hierbei durften nur jüngere, noch nicht zu stark verholzte Stücke genommen werden, da das Material infolge der Behandlung äußerst hart wurde und die Messer nur zu leicht beschädigte. Die Schnitte, die sich bei diesem Verfahren leicht rollten, wurden dann auf einem Objektträger ausgebreitet, Kollodium und Paraffin aus ihnen mittels Alkohol-Äther bezw. Xylol entfernt und nach entsprechender Überführung in Glyzerin teils auch in Kanadabalsam untersucht.

Anatomisch-mikroskopischer Befund.

Bei der anatomisch-mikroskopischen Untersuchung stellte sich zunächst heraus, daß die oben (p. 2) angegebene Bezeichnung der Wirtspflanze im Buitenzorger Garten unrichtig ist. Der befallene Strauch gehört nämlich nicht zu der Gattung *Cordyline*, sondern zu *Dracaena*.

Denn nach *Rotherts* Untersuchungen¹⁾ zeichnet sich *Dracaena* im Gegensatze zu *Cordyline* unter anderem durch folgende anatomische Eigentümlichkeiten aus:

Die Leitstränge in den Blättern weisen eine abnorme Orientierung auf. Nur bei dem Medianstrange ist das Phloem der Unterseite, das Xylem der Oberseite des Blattes zugekehrt. Bei fast allen übrigen Leitsträngen ist das Phloem nach dem Rande, das Xylem nach der Mediane des Blattes gerichtet, die Symmetrieebene also um 90° gedreht; zuweilen geht diese Drehung der Leitstränge noch über 90° hinaus; so beobachtete *Rother* in einem Falle eine Drehung von nahezu 180°.

Der auffälligste Unterschied aber besteht in dem Bau der Leitstränge des Stammes, worauf bereits *Strasburger*²⁾ hinweist. Denn während bei *Cordyline* die primär und sekundär erzeugten Leitstränge amphivasal-konzentrisch gebaut sind, weisen bei *Dracaena* die primären und die sekundären Stränge auffallend verschiedenen Bau auf. Die ersteren sind kollateral und mit einem mehrschichtigen, nach der Rindenseite hin

¹⁾ *Rother*, W., Über die anatomischen Differenzen der Gattungen *Dracaena* und *Cordyline*. (Bull. du Département de l'Agriculture aux Indes Néerlandaises. N. 24. Buitenzorg 1909).

²⁾ *Strasburger*, E., Über den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891. p. 400.

besonders stark entwickelten Sklerenchymbeleg versehen. Die sekundär erzeugten Stränge dagegen sind konzentrisch-amphivasal. Sie besitzen keinen Sklerenchymbeleg und sind — dieses wie bei *Cordylina* — dicht gedrängt eingebettet „in ein Gewebe aus radial etwas gestreckten Zellen, welches die Bezeichnung Markstrahlgewebe verdient“¹⁾.

Bei der vorliegenden *Dracaena*-Spezies setzt der durch das Folgermeristem erzeugte Zuwachs 6 bis 7 cm unterhalb des Vegetationspunktes ein. Da nun die Spitzen der Äste durch die sie umgebenden Blätter zu gut geschützt sind, als daß hier bereits ein Keimling erfolgreich eindringen könnte, und die Senker zudem eine gewisse Zeit brauchen, um die Leitungsbahnen des Wirtes zu erreichen, so ist es leicht erklärlich, daß ich im Laufe der Untersuchung den Parasiten stets nur bis an die bereits durch sekundären Zuwachs gebildeten Leitbündel des Nährastes reichen sah. Diese sind aber, wie wir sahen, konzentrisch-amphivasal gebaut und frei von jeglichem Sklerenchymbeleg in das markstrahlartig angeordnete Grundgewebe eingelagert.

Der sekundär erzeugte Zuwachs unserer *Dracaena* weist somit in seinem Aufbau eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Holzkörper dikotyler Pflanzen auf, jedoch mit dem wesentlichen Unterschiede, daß bei *Dracaena* der Zentralzylinder aus den in sich abgeschlossenen mit Gefäß- und Siebteil versehenen Gefäßbündeln gebildet wird. Es ist daher, da die für die Monokotyledonen charakteristischen primär erzeugten, durch den Sklerenchymbeleg stark bewehrten und auf dem Querschnitte unregelmäßig verteilten Gefäßbündel des Nährastes im vorliegenden Falle vom Schmarotzer nicht erreicht werden, der Anschluß an die Leitungsbahnen der Wirtspflanze nicht so schwierig, wie ursprünglich vermutet, sondern kann sich in der für die dikotylen Wirtspflanzen bekannten Weise vollziehen.

Wenn hierdurch sich auch einige der oben aufgeworfenen Fragen von selbst erledigen, so ist eine eingehende Untersuchung des vorliegenden Materials trotzdem geboten, zumal unsere bisherigen Kenntnisse über den Bau des Loranthaceen-Haustoriums noch manche Lücken aufzuweisen haben. Wir besitzen zwar bereits einige Veröffentlichungen über diesen Gegenstand, doch stützen sich diese teils nur auf einzelne, zufällig gebotene Objekte bezw. Objektstücke, teils behandeln sie den Gegenstand nur in großen Zügen²⁾. Eine ausführliche Schilderung der Haustorien und ihrer Entwicklung an Hand des vollständigen Materials mit den verschiedensten Entwicklungsstufen dürfte daher am Platze sein.

Quer-Längsschnitt.

Betrachten wir zunächst einen Quer-Längsschnitt (über die Bezeichnungsweise vergl. p. 5) durch die Mitte eines Haustoriums (s. Fig. 1, sowie die Tafel) näher, so sehen wir das der Unterseite der Wurzel entspringende Haustorium

¹⁾ Strasburger, E., Leitungsbahnen p. 399

²⁾ Vergleiche hierzu die zusammenfassende Arbeit von Solms-Laubach, H. Graf zu —, Das Haustorium der Loranthaceen und der Thallus der Rafflesiaceen und Balanophoraceen. (Abh. d. Naturf. Ges. zu Halle. Bd. 13. 1875. H. 3).

Von neueren Arbeiten seien erwähnt:

Engler, A., Loranthaceae (Engler-Prantl, Die natürl. Pflanzenfamil. 3, 1. p. 156—198).

Reiche, K., Bau und Leben der hemiparasitischen *Phrygilanthus*-Arten Chiles. (Flora Bd. 97. 1907. p. 375—400).

York, H., The anatomy and some of the biolog. aspects of the „American Mistletoe“. (Bull. of the Univ. of Texas. Nr. 120. 1909).

mit verbreiteter Ansatzfläche dem Nähraste fest aufsitzen. Mit Solms-Laubach¹⁾ können wir an diesen Schnitten deutlich mehrere Zonen unterscheiden: Zunächst einen peripherischen und einen zentralen Teil, die Rinde und den Kern des Haustoriums; letzteren können wir wieder in den außerhalb des Nährastes gelegenen Haustorialkern und den in den Nährast eintretenden Saugfortsatz zergliedern.

Die Rinde des Haustoriums setzt unmittelbar an die Rinde der Mutterwurzel an. Bei dieser geht deren sehr lockeres und von einzelnen Sklerenchymzellgruppen durchsetztes Zellgewebe außen in eine mit dunkelbraunem Inhalte erfüllte Zellschicht über, auf die einige Lagen kubischer Korkzellen folgen. Die stark entwickelte Haustorialrinde besteht demgegenüber aus dichter aneinander schließendem, stärkereichem, großzelligem Parenchym. Dieses wird in der Längsrichtung von einem braunen Streifen durchzogen (TS), für den Solms-Laubach die Bezeichnung Trennungsstreifen einführte²⁾.

Behandeln wir die Schnitte mit Chromsäure, Schwefelsäure oder Kalilauge, so schwinden diese Streifen; durch Eau de Javelle werden sie zunächst entfärbt, um nach längerem Einwirken ebenfalls gelöst zu werden. Diphenylamin-Schwefelsäure färbt sie hellbraun, Chlorzinkjod braun, Phlorogluzin-Salzsäure läßt sie ungefärbt; in 25 Proz. Salzsäure aufgeköcht nehmen sie rote Färbung an.

Sie entstehen aus den Membranen von Zellen, die infolge des beim Wachstume des Haustoriums auftretenden Druckes zusammengepreßt werden und hierbei ihren Inhalt einbüßen. Sie treten uns als braune, mehr oder minder breite Streifen entgegen, die in der Rinde bis in die Spitzen der Ansatzflächen hinabreichen, während sie sich nach oben zu, dort wo das Haustorium an die Mutterwurzel ansetzt, zwischen den Zellen verlieren. Nach der Innenseite zu lösen sie sich in ihrem unteren Verlauf strahlenförmig nach der Ansatzfläche hin auf; hier umschließen sie vereinzelt Höhlungen (H), die zum Teil von großen, sehr

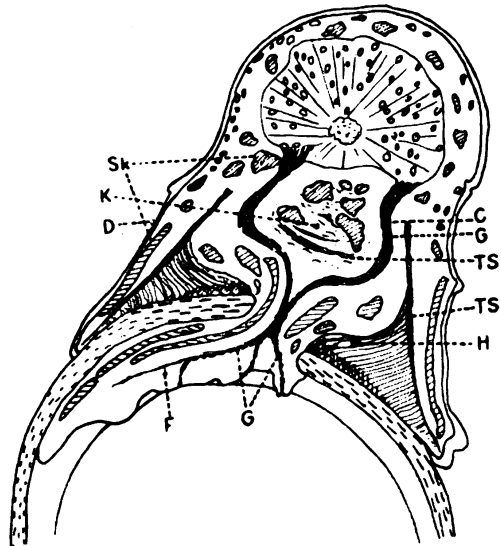


Fig. I.

lockeren inhaltsarmen Zellen erfüllt werden. An der Bildung beteiligen sich die Zellen sowohl der Innen- wie der Außenseite. Man erkennt vielfach deutlich den Übergang von den lebenden, stärkeerfüllten Rindenzellen zu den abgestorbenen immer schmäler und verschwommener werdenden Zellen der Trennungsstreifen. Dieser Übergang ist an der Außenseite der Streifen ein allmählicher, an der Innenseite hingegen stoßen die stärkehaltigen lebenden Zellen fast plötzlich an die stark entwickelte Schicht zerdrückter Membranen.

¹⁾ Solms-Laubach, H. Graf zu —, Über den Bau und die Entwicklung der Ernährungsorgane parasitischer Phanerogamen. (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 6. 1868. p. 541 u. 543).

²⁾ Solms-Laubach, H. Graf zu —, Bau u. Entw. der Ernährungsorgane. p. 542.

Es erweckt ganz den Anschein, daß an der Bildung der Trennungstreifen die äußeren Zellen der Rinde in weit höherem Maße als die inneren beteiligt sind.

Während das Gewebe an der Innenseite der Trennungstreifen aus kleinen abgerundeten und sehr stärkehaltigen Zellen besteht, sind die nach außen gelagerten Zellen größer, mehr oder minder polygonal und nicht ganz so stärkereich; in ihren äußeren Lagen führen sie Sklerenchymzellgruppen (SK), die zuweilen zu Platten zusammenschließen.

Bei den jüngeren Haustorien wird der Abschluß nach außen durch die Epidermis nebst einigen darunter befindlichen gebräunten Zellen besorgt. Später bildet sich auch hier wie bei der Mutterwurzel darunter eine Korkschicht aus, der dann die abgestorbenen Epidermiszellen aufliegen. An der Epidermis treten zuweilen mehrzellige, unverzweigte Haarbildungen (D) uns entgegen, wie solche vereinzelt auch auf der Wurzelrinde vorkommen.

Dort, wo sich das Haustorium dem Nähraste anheftet, nimmt die Haustorialrinde besondere Mächtigkeit an; ihre Zellen sind schräg nach unten und zur Mitte hin angeordnet. Die Zellwände sind verholzt, und die Zellen an der Ansatzfläche und zumal nach der Durchbruchstelle des Saugfortsatzes hin von gelbbraunem Inhalte erfüllt. Mitunter dringen einzelne Zellen oder auch Zellgruppen der Haustorialrinde in die Wirtsrinde ein. Von irgendwelcher Bedeutung für die Ernährung der Pflanze, wie dieses von Leclerc du Sablon¹⁾, Koch²⁾ und Sperlich³⁾ für die in die Nährwurzel eindringenden Rindenzellen der Rhinanthaceen festgestellt wurde, sind diese Zellen hier jedoch nicht. Niemals sah ich sie, auch bei älteren Haustorien nicht, die Korkrinde des Nährastes durchbrechen; sie drangen nur in deren oberste Schichten ein, um hierdurch ein möglichst festes Anhaften zu bewirken.

Von der Rinde wird der Haustorialkern umschlossen. Seine Form kann mit der einer dickbauchigen Flasche verglichen werden; das dem Flaschenhalse entsprechende Stück ist dem Wirtsaste zugekehrt. Diese Flaschenform wird durch die Gestalt des innersten Teiles des Haustorialkernes bedingt. Dieses stellt ein lockeres Gewebe dar, das sogenannte Kernparenchym (K), das neben geringem Protoplasmagehalt reichlich Stärke führt. In dem obersten Teile sind dessen Zellen zu Reihen angeordnet, die das Haustorium quer durchsetzen. Die Zellen des mittleren und unteren Teiles zeigen diese Anordnung nicht mehr deutlich; sie stellen vielmehr ein stark gelockertes, markartiges Gewebe dar, in das einzelne Sklerenchymzellen oder auch Zellgruppen (SK) eingelagert sind. Außerdem ziehen zwischen den einzelnen Zellen Gefäße unregelmäßig in allen Richtungen dahin, so daß man in dieser Region auf allen Schnitten zwischen den Zellen auf quer und längs geschnittene Gefäße trifft. In zur Längsachse senkrechter Richtung durchsetzen das Kernparenchym ein oder mehrere Trennungstreifen (TS'), wie wir sie bereits in der Rinde kennen lernten, jedoch von geringerer Ausbildung und geschlängelter Verlauf.

Nach außen zu begrenzen Gefäßzüge (G) das Kernparenchym. Sie entspringen der abgeflachten Unterseite des Holzkörpers der Mutterwurzel,

¹⁾ Leclerc du Sablon, Recherches sur les organes d'absorption des plantes parasites. (Ann. d. scienc. nat. Sér. 7. Bot. T. 6. 1887. p. 97).

²⁾ Koch, L., Zur Entwicklungsgeschichte der Rhinanthaceen (*Rhinanthus minor* Ehrh.). (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 20. 1889. p. 25).

³⁾ Sperlich, Ad., Beiträge zur Kenntnis der Inhaltsstoffe in den Saugorganen der grünen Rhinanthaceen. (Beih. z. Botan. Centralbl. Bd. 11. 1902. p. 470).

ziehen zunächst eine kurze Strecke abwärts, um dann weit nach außen biegend sich weiter unten wieder zu nähern und sich schließlich zum gemeinsamen Durchbruche des Nährastes zu vereinigen. Die Gefäßzüge sind gebildet aus kurzen, netzförmig verdickten, unregelmäßig geformten Elementen, die durch runde Durchbrechungen miteinander in Verbindung stehen, wobei häufig zwei Gefäße sich an ein folgendes oder vorhergehendes anlegen. Zwischen den Gefäßen lagern einzelne Holzfasern.

Wie wir später bei Betrachtung des Radial-Längsschnittes und des Tangential-Querschnittes sehen werden, handelt es sich hier nicht um einen das ganze Haustorium durchsetzenden Gefäßzylinder, sondern um einzelne parallel verlaufende Gefäßgruppen, die durch parenchymatische Zellreihen getrennt sind, die ihrerseits den inneren und äußeren Teil des Haustoriums miteinander verbinden.

Aus den soeben geschilderten Verhältnissen erklärt es sich leicht, daß nicht auf allen Quer-Längsschnitten die Gefäßzüge das Haustorium in ununterbrochenem Zuge durchsetzen. Wir sehen vielmehr auf vielen Schnitten den Gefäßverlauf von radial angeordneten parenchymatischen Zellreihen unterbrochen. Es handelt sich hier um Schnitte, die nicht genau parallel der Längsachse des Haustoriums geführt sind und somit mehrere der parallel verlaufenden Gefäßgruppen treffen. Der oberhalb und unterhalb des parenchymatischen Querstreifens befindliche Gefäßzug gehört dann nicht derselben Gefäßgruppe an, sondern zwei benachbarten. Auf Schnitten, die von der Richtung der Längsachse noch mehr abweichen, nimmt die Zahl der scheinbaren Unterbrechungen in den Gefäßzügen entsprechend zu.

Die Gefäßzüge sind außen von einigen Reihen länglich-schmaler Zellen (C) begrenzt. Diese Zellzüge fallen in den Präparaten durch ihren gebräunten reichlichen Protoplasmagehalt und ihre großen Zellkerne auf. Besonders gut sind sie in den Schnitten zu erkennen, die zum Beseitigen der im Haustorium befindlichen Stärke mit Wasser aufgekocht, dann mit Fuchsin gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen wurden. Die einzelnen Zellen dieser parallelen Zellzüge sind in gleicher Höhe durch Querwände getrennt; entsprechende Höhe weisen die anstoßenden Gefäße auf. An der Mutterwurzel gehen die Reihen in deren Kambium über. Es handelt sich hier, wie wir später bei Besprechung des Saugfortsatzes sehen werden, um ein meristematisches Gewebe, dem die Gefäße ihren Ursprung verdanken. Gefäßzüge nebst diesen meristematischen Zellzügen sind eingelagert in parenchymatische, stärkeführende Zellen, die an die Rindenzellen anstoßen.

Der **S a u g f o r t s a t z** (F) ist die Fortsetzung der Gewebe des Haustorialkernes in das Innere des Wirtes. Seine Form ist eine recht verschiedene. Der einfachste Fall ist der, daß die Gewebe des Parasiten die Rinde des Nährastes keilförmig durchbrechen und bis zu dessen Holzkörper vordringen. Meist aber breitet sich der Saugfortsatz, am Holzkörper angelangt, in der Kambiumzone des Wirtes plattenförmig aus. Dieses seitliche Auswachsen kann nach allen Seiten gleichmäßig vor sich gehen; häufiger jedoch bleibt eine Seite im Wachstume zurück, während der Fortsatz nach der anderen Seite hin weit zwischen Rinde und Holzteil des Wirtes eindringt.

Er ist seiner Hauptmasse nach aus zartwandigen parenchymatischen, jedoch etwas in der Längsrichtung gestreckten Zellen gebildet, die in verschiedenem Grade Stärke führen; meist findet sich eine starke Anhäufung davon in den dem Holzzylinder des Wirtes zugekehrten Zellagen. Dieses Grundgewebe wird von Gefäßzügen (G) durchzogen, von denen sich ein-

zelne Gefäßreihen absondern, um mit den Wasserbahnen des Wirtes in innige Verbindung zu treten. Durch den Einfluß des Schmarotzers kommt es hierbei vielfach zu Unregelmäßigkeiten bei der Ausbildung der Gefäßelemente. Diese Gefäße werden zum Teil schräg gegen das Parasitengewebe hin verlagert und kommen so in Lagen, die den Anschluß des Parasiten an die Wasserbahnen des Wirtes begünstigen. Hierbei lagern sich die Gefäßelemente des Schmarotzers dicht an die Wirtsgefäße an und treten durch Tüpfel mit ihnen in Verbindung. Eine direkte Kommunikation, zwischen Parasiten- und Wirtsgefäßen, wie ich sie bei *Cuscuta Europaea* auf *Urtica dioica* beobachtete, konnte ich hier nicht wahrnehmen.

Auf eine andere Erscheinung aber, die für das Weiterkommen des Parasiten von nicht geringer Bedeutung ist, muß hier hingewiesen werden. Es sind nämlich nicht nur die tracheidalen Elemente des Wirtes, an die sich die Parasitengefäße anschließen; ich sah sie vielmehr auch mit dessen Grundgewebezellen in Verbindung treten. Auch hierbei zeigen sich dann Unregelmäßigkeiten in der Ausbildung der in Anspruch genommenen Zellen. Die Zellen, an die sich der Parasit mit seinen Gefäßen anlegt, wachsen unverhältnismäßig groß aus — zuweilen über das fünffache ihrer normalen Größe —; die diesen benachbarten Zellen sind den gleichen Veränderungen unterworfen, jedoch in geringerem Maße.

Diese Unregelmäßigkeiten sind so auffallend, daß sie schon bei schwacher Vergrößerung die Anwesenheit eines derartigen Anschlusses von Gefäßzügen des Parasiten an den Nährast erkennen lassen. Es muß daher auffallen, daß diese Art des Anschlusses in den bisherigen Arbeiten meines Wissens nirgends berücksichtigt ist. Dieses kann darauf zurückzuführen sein, daß diese Stellen — vielleicht infolge des mangelhaften Untersuchungsmaterials — der bisherigen Beobachtung entgangen sind. Andererseits liegt aber auch die Möglichkeit vor, daß es sich hier um eine durch den Bau der Wirtspflanze bedingte Eigentümlichkeit des *Loranthus* handelt. Wie wir bei Besprechung des Aufbaues der *Dracaena* sahen, sind deren Gefäßbündel in dem sekundären Zuwachse in die radial angeordneten Reihen des Grundgewebes eingelagert, die nach Strasburger¹⁾ den Markstrahlen der Gymnospermen und Dikotylen gleichzustellen sind, also von der Pflanze auch zur Stoffleitung herangezogen werden können. Da nun der Parasit bei seinem Streben nach wasserzuführenden Elementen nicht erst behufs Anschluß an die Leitungsbahnen des Wirtes das diese umgebende Grundgewebe zu durchbrechen braucht, sondern — wenn nötig — gleich an dessen Elemente sich anschließen und diese für seine Zwecke dienstbar machen kann, so ist hierdurch die Anschlußmöglichkeit erheblich erleichtert und das Fortkommen des Schmarotzers gefördert.

Auch im Saugfortsatze sind die Gefäßzüge von schmalen, plasmareichen Zellen begleitet. Diese sind hier im Saugfortsatze auch Solms-Laubach²⁾ aufgefallen, ohne daß er jedoch etwas über ihre Natur aussagt. Er schreibt darüber: „Oftmals werden diese Stränge (Gefäßstränge) von Zellen umhüllt, die, sonst den übrigen gleich gebaut, sich durch stärkere Längsdehnung auszeichnen; mitunter auch scheinen beinahe die ganzen Stränge aus solchen Zellen zu bestehen, zwischen welchen nur hier und da einzelne Gefäßelemente oder Gruppen von solchen eingelagert sind. In

¹⁾ Strasburger, E., Leitungsbahnen. p. 339.

²⁾ Solms-Laubach, H. Graf zu —, Das Haustorium der Loranthaceen. p. 6/7.

ihnen allein pflegt die sonst alle Haustorialgewebe erfüllende Stärke nicht oder doch spärlich vertreten zu sein, so daß sie, ähnlich wie die Trennungstreifen bei Betrachtung mit unbewaffnetem Auge, als dunkle Linien in hellerer Grundmasse erscheinen.“

Wir wiesen bereits oben auf das Vorkommen gleicher Zellen im Haustorialkern hin. Diese Zellen erwecken in ihrer den Gefäßgruppen nach außen vorgelagerten Lage zumal auf den Tangential-Querschnitten, wo sie nebst den Gefäßgruppen quer getroffen werden, zunächst den Eindruck von Siebteilen. Bei näherer Prüfung ließen sich aber niemals Siebplatten feststellen; die Querwände zeigten vielmehr die gleiche Beschaffenheit wie die Längswände. Auch die Färbungen mit Anilinblau und Korallinsoda ließen keine Elemente des Siebteiles erkennen. Die Zellzüge bestehen vielmehr aus einheitlichen, in gleicher Höhe durch Querwände geteilten, kernführenden Zellen. Der Umstand, daß sie bereits in sehr jungen Entwicklungsstadien und in den Saugfortsätzen vielfach allein ohne Begleitung der Gefäßzüge anzutreffen sind, ihre Zellen zudem auch stets gleiche Höhe aufweisen wie die ihnen benachbarten Gefäßzellen, ferner ihr inniger Zusammenhang mit dem Kambium der Mutterwurzel, alles das weist mit ziemlicher Sicherheit darauf hin, daß wir hier ein meristematisches Zellgewebe vor uns haben, aus dem die Gefäßzüge hervorgehen.

Außerdem finden wir noch sklerenchymatische Elemente vor (SK). Meist treten Gruppen davon parallel den Gefäßzügen an der Durchbruchstelle in den Saugfortsatz ein und geleiten die Gefäße hier noch eine Strecke weit. Daneben finden sich Steinzellgruppen zuweilen in beträchtlicher Anzahl unregelmäßig im Gewebe verteilt. Auf Bau und Funktion derselben soll später noch näher eingegangen werden.

In den äußeren Schichten des Saugfortsatzes werden dessen Zellen kleiner, protoplasmareicher, nehmen mehr kubische Gestalt an und ihre Zellwände pflegen senkrecht zu dem angrenzenden Wirtsgewebe gestellt zu sein. Die äußersten Zellschichten sind stärkefrei. An der dem Holzzylinder des Wirtes zugekehrten Seite finden wir sie vielfach in eine gelbe Masse eingebettet, in die einzelne Zellen oder Zellgruppen des Fortsatzes sich vorstülpen (vergl. Fig. 1 der Taf.).

Diese Masse besitzt eine große Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und Basen; in Alkohol sowie Äther ist sie unlöslich; kochendes Wasser übt keinen sichtbaren Einfluß auf sie aus; sie färbt sich mit Chlorzinkjod gelbbraun, Korallin braunrot, Safranin hell-kirschrot, Phlorogluzin-Salzsäure rot; mehrmaliges Aufwallen mit 25 Proz. Salzsäure läßt sie schmutzig-braun und körnig erscheinen. Die Masse weist Holzreaktionen auf und stammt von verflüssigten Zellelementen des Wirtes. Heinrich¹⁾ kommt auf Grund seiner Untersuchungen für *Lathraea* zu dem gleichen Ergebnisse im Gegensatz zu Solms-Laubach²⁾, der diese gelbe Masse durch Veränderung zusammengepreßter Zellmembranen entstehen läßt und in die Verwandtschaft von Korksubstanz und Kutikula stellt.

Wo die gebildete Substanz in größerer Ansammlung auftritt, sehen wir in ihr denn auch einzelne Zellen des Wirtes, deren Umrisse noch erhalten sind, die von den zugehörigen Zellen aber mehr oder weniger durch

¹⁾ Heinrich, E., Anatomischer Bau und Leistung der Saugorgane der Schuppenwurz-Arten. (Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz. Bd. 7. 1896. p. 361. f. f.).

²⁾ Solms-Laubach, H. Graf zu —, Ernährungsorgane parasitischer Phanerogamen. p. 568.

sie getrennt sind. An anderen Stellen wiederum treffen wir sie weit zwischen die einzelnen Wirtszellen in den Interzellularen vorgedrungen, zum Teil auch benachbarte Gefäße erfüllend.

Wo die Zellen des Saugfortsatzes an die Korkzellen der Wirtsrinde anstoßen, lassen sich ihre Außenwandungen nur bei starker Vergrößerung erkennen, da sie hier äußerst fein sind; wo sie aber an das Rindenparenchym grenzen, da nimmt ihre Membran ein gequollenes Aussehen an; eine gelbbraune Grenzschicht tritt auf. Da nach Pitra¹⁾ das den eindringenden Saugfortsatz vieler Parasiten begrenzende Rindengewebe der Wirtspflanze von Korkstoff durchdrungen wird, so prüfte ich daraufhin mit Chlorophylllösung; während sich das verkorkte Periderm deutlich grün färbte, wies die Grenzschicht kein Grün auf und ist hier bei *Loranthus* jedenfalls nicht verkorkt; sie zeigte vielmehr die gleichen Eigenschaften wie die soeben besprochene gelbe Masse, mit der sie wohl auch identisch ist.

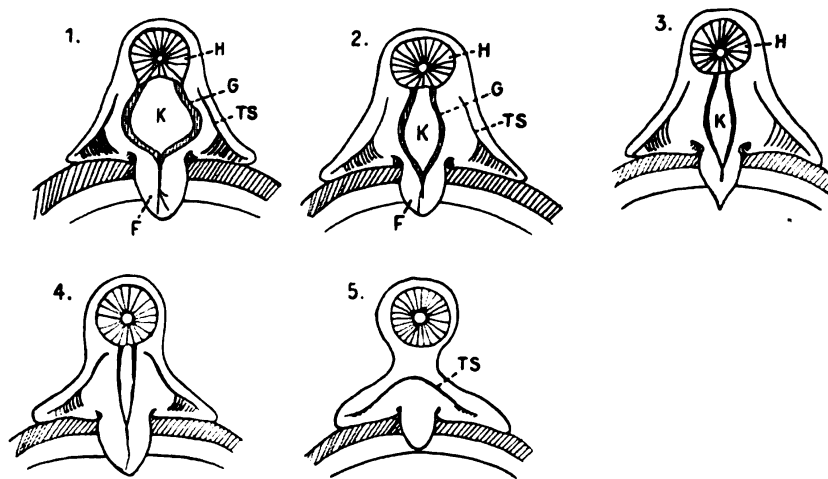


Fig. II.

In den nach der einen oder der anderen Seite hin folgenden Parallelschnitten zu dem soeben geschilderten Mittelschnitte, die uns über die Form des Haustoriums weiteren Aufschluß geben sollen, treten einige Änderungen auf. Die beigefügten Skizzen mögen dieses veranschaulichen.

Während auf dem Mittelschnitte (1) — wie wir sahen — die der abgeflachten Unterseite des Holzkörpers der Mutterwurzel (H) entspringenden Gefäße (G) in zwei Reihen nach beiden Seiten hin weit auseinanderbiegen, um sich weiter unterhalb wieder einander zuzuwenden und, in geschlossenem Zuge die Mitte des Saugfortsatzes einnehmend, in das Wirtsgewebe einzudringen, rücken in den folgenden Schnitten (2) die Ursprungsstellen der Gefäßreihen langsam immer mehr aufeinander zu; die Masse des Kernparenchyms (K) wird geringer und nimmt schlankere Form an, so daß die Gefäßzüge nicht mehr so stark nach außen biegen. Weiterhin sehen wir dann den Haustorialkern noch kleiner werden und die Gefäßzüge näher aneinanderrücken; bald sind sie nur noch durch einen kleinen Zellkomplex getrennt (3); ihr Verlauf wird dementsprechend gestreckter. Zuletzt (4) treten uns die zwei Stränge nur noch durch eine dünne Zellschicht getrennt ent-

¹⁾ Pitra, A., Über die Anheftungsweise einiger Parasiten an ihre Nährpflanzen. (Botanische Zeitung. Bd. 19. 1861. p. 65).

gegen, in fast geradem Zuge das Haustorium durchsetzend; die bisher noch verhältnismäßig stark entwickelten Trennungstreifen (TS) werden schwächer und treffen schließlich (5) oberhalb zusammen; wir sind hiermit bereits in der Haustorialrinde angelangt.

Tangential-Querschnitt.

Zum leichteren Verständnisse der nun im folgenden zu besprechenden Tangential-Querschnitte und Radial-Längsschnitte möge uns umstehende Figur dienen. Die auf einem Quer-Längsschnitt eingetragenen Linien geben mit den zugehörigen Zahlen die Lagen an, denen die im folgenden beschriebenen Schnitte entnommen sind.

Ein Tangential-Querschnitt durch die Ursprungsstelle eines Haustoriums läßt uns den Eintritt der Gefäße der Mutterwurzel in das Haustorium erkennen. Aus dem Holzkörper der Wurzel lösen sich Gefäßstränge heraus (G, 1, 1') und biegen in das Haustorium ein, wo sie sich zunächst in einer Ellipse anordnen. An ihrer Außenseite befinden sich die nunmehr im Querschnitt getroffenen zarten embryonalen Zellen, denen sie ihren Ursprung verdanken. Der von ihnen umschlossene Raum wird von dem Kernparenchym (K)

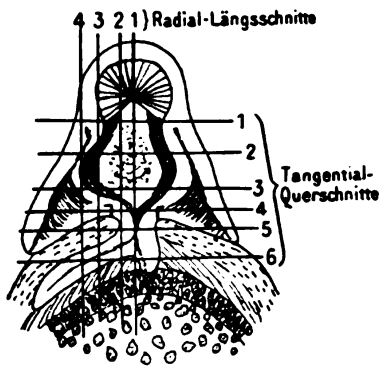


Fig. III.

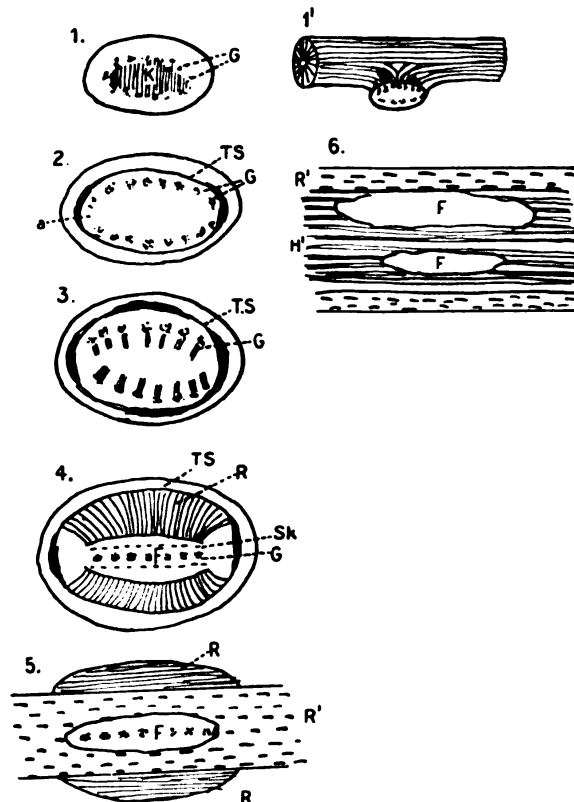


Fig. IV.

eingenommen, dessen Zellen in der Mitte locker aneinanderstoßend, in Richtung des kleineren Haustorialdurchmessers reihenweise Anordnung aufweisen. Dieses Kernparenchym wird von einzelnen Gefäßen durchzogen, die — wie wir bereits auf dem Quer-Längsschnitt sahen — in allen Richtungen verlaufen.

Die Gefäße bilden keinen geschlossenen Ring um das Kernparenchym; dessen Zellreihen setzen sich vielmehr zwischen den einzelnen Tracheensträngen fort und stehen hier mit den Außenzellen in Verbindung. Zwischen den Kambiumzellgruppen der einzelnen Gefäßzüge haben sie ihren Bildungsherd. Es findet sich also ein geschlossener Meristemring in dem Haustorium vor. Auf den Kambiumring folgt ein immer lockerer aneinanderschließendes Parenchym, das ohne deutliche Grenze in die breite Rinde übergeht.

Ein solcher Tangential-Querschnitt eines Haustoriums kann somit des leichteren Verständnisses halber in gewissem Sinne mit einem Stengelquerschnitte verglichen werden. Das in der Mitte befindliche markartige Kernparenchym wird von den Gefäßgruppen begrenzt. Nach außen hin befindet sich ein meristematischer Ring von einer breiten Rinde aus parenchymatischen Zellen begrenzt. Wie beim Stengel die Markstrahlen eine Verbindung zwischen den äußeren und inneren Teilen bewirken, so wird auch hier das Kernparenchym durch parenchymatische Streifen mit der Haustorialrinde verbunden.

Weiter unterhalb biegen die Gefäße etwas nach außen (2). Das Kernparenchym nimmt einen breiteren Raum ein; es weist sklerenchymatische Elemente auf. Zudem weichen die Gefäßzüge an den Seiten (bei a) der längeren Haustorialachse etwas nach den Breitseiten auseinander und ordnen sich somit in zwei sichelförmige Tracheenbänder an. In der Rinde treten uns die Trennungstreifen (TS) als unregelmäßige Kreislinien entgegen; an den Gefäßseiten sind sie stark entwickelt, an den Schmalseiten aber nur als zarte Linien angedeutet.

Weiterhin wenden sich die Gefäßreihen zur Mitte hin (3); wir treffen sie hier daher schräg. Auf dem nächsten Schnitte (4) haben wir bereits den Saugfortsatz (F) vor uns. Die Gefäße haben sich in dessen Mitte in einer Reihe angeordnet (G), an deren Breitseite je eine Reihe sklerenchymatischer Zellgruppen (SK) auftritt. Weiter nach außen treten uns in radialer Anordnung die Zellreihen der Ansatzwülste (R) entgegen; innen grenzen sich diese scharf gegen das Gewebe des Fortsatzes ab; außen werden sie von den Trennungstreifen begrenzt.

Das nächste Bild (5) zeigt uns den in der Rindengegend (R') tangential geschnittenen Nährast. Zwei Platten, die Ansatzwülste (R) des Haustoriums, liegen ihm außen auf; innen durchsetzt ihn der Senker (F) in schmalem Streifen. Auf dem letzten Bilde (6) sehen wir die Enden des Saugfortsatzes (F) zwischen Rinde und Holzteil des Wirtes sich hinziehen.

Wirklich symmetrische Bilder — zumal von den in dem Wirt gelegenen Schmarotzergeweben — erhält man nur selten, da die Haustorien meist auf einer Seite gefördertes Wachstum aufweisen.

Ob diese Wachstumsverhältnisse mit der Stellung des Haustoriums zur Wirtspflanze in irgendwelchem Zusammenhange stehen, konnte ich an dem Untersuchungsmaterial naturgemäß nicht feststellen. Es wäre jedenfalls interessant, diese Frage an Ort und Stelle zu prüfen. Möglicherweise beruhen diese Unregelmäßigkeiten im seitlichen Vordringen des Saugfortsatzes nur auf ungleichmäßiger Ausbildung der angrenzenden Wirtsgewebe, so daß diese nach einzelnen Seiten hin leichter durchdrungen werden; vielleicht läßt sich aber auch bei näherer Prüfung ein äußerer Einfluß nachweisen.

Radial-Längsschnitt.

Aus dem bisher Mitgeteilten können wir entnehmen, daß wir auf einem mittleren Radial-Längsschnitte nur an der Ursprungsstelle und an der Durchbruchstelle auf Gefäße treffen werden. Wir sehen denn auch im oberen Teile (1) (bei G) seitlich einige Gefäßreihen der Mutterwurzel in das Haustorium einbiegen; ihren Verlauf können wir naturgemäß nur eine kurze Strecke weit verfolgen, da sie ja bald etwas nach den Breitseiten des Haustoriums umbiegen. Im Kernparenchym haben wir auch hier (K) die unregelmäßig verlaufenden Gefäßelemente vor uns. Mehr oder weniger entwickelte

Trennungstreifen (TS') durchsetzen es quer. Im unteren Teile treten die Gefäßzüge (G') dann wieder in die Schnittebene ein; sie streben von allen Seiten der Mitte der Ansatzfläche zu und dringen hier parallel zueinander in einer Reihe angeordnet in den Wirt ein, wo sie dann im Saugfortsatze wieder auseinanderbiegen. Die sie umgebenden Elemente verlaufen ebenfalls in Reihen angeordnet von der verschmälerten Durchbruchsstelle des Fortsatzes aus büschelartig auseinander. Die Grenzlinie zwischen Wirts- und Parasitengewebe ist eine unregelmäßige Linie, da einzelne Zellen oder Zellgruppen des letzteren bald weiter gegen den Wirt hin vorspringen, bald gegen die anderen zurückbleiben.

Auf dem folgenden Schnitte (2) treten die Ursprungstellen der Gefäße näher aneinander. An Stelle der Gefäße finden wir jetzt im Saugfortsatze Sklerenchymzellreihen (SK); ober- und unterhalb davon die nun quergetroffenen Gefäßstränge (G').

Das nächste Bild (3) zeigt uns bereits den Fortsatz (F) durch die Wirtsrinde von den epikortikalen Teilen des Haustoriums getrennt. Im oberen Teile ist noch ein schmaler Streifen (G) der aus der Mutterwurzel einbiegenden Gefäße getroffen; darunter quergeschnittene Gefäße (G'), die nach außen umbiegen und dann unterhalb wieder in die Schnittebene eintreten; deshalb treten hier nochmals quergeschnittene Gefäße auf. Außen sind Gefäße in der Umbiegungsstelle und daher längs getroffen (G''). Seitwärts erscheinen die Trennungstreifen (TS) der Rinde. Die dem Nähraste aufsitzende Rinde (R) des Parasiten besteht aus dickwandigem, polygonalem Gewebe, das lückenlos aneinanderschließt; nach innen zu geht es allmählich in dünnwandigeres Parenchym über.

Auf dem nächsten Bilde (4) treten die Trennungstreifen (TS') in der oberen Hälfte zusammen. Darunter liegen noch einige in der Umbiegungsstelle längs getroffene Gefäße (G). Die Rindenzellen zeigen sich in von oben nach unten verlaufenden Reihen angeordnet.

In fast allen Teilen des Haustoriums finden wir sklerenchymatische Elemente verteilt (Fig. VI). Bald treffen wir sie einzeln oder in Gruppen an, bald schließen sie sich zu Zügen oder Platten zusammen. Auch die Form der einzelnen Zellen ist eine recht verschiedene. Neben solchen von Steinzellenform, wie sie in gleicher Ausbildung aus dem Fruchtfleische der Birne bekannt sind, finden wir andere, die eine reiche Verzweigung aufweisen, sowie kleinere, die gleich den Zellen der Endodermis mancher Wurzeln dreiseitige Verdickungen besitzen und dann vielfach sich zu langen Strängen vereinigen.

Nach Zusatz von Chlorzinkjod färben sie sich gelbbraun, mit Phlorogluzin-Salzsäure intensiv rot, mit Diphenylamin-Schwefelsäure goldgelb, mit Korallin mattbraun, mit 25 Proz. Salzsäure aufgeköcht gelblich-braun.

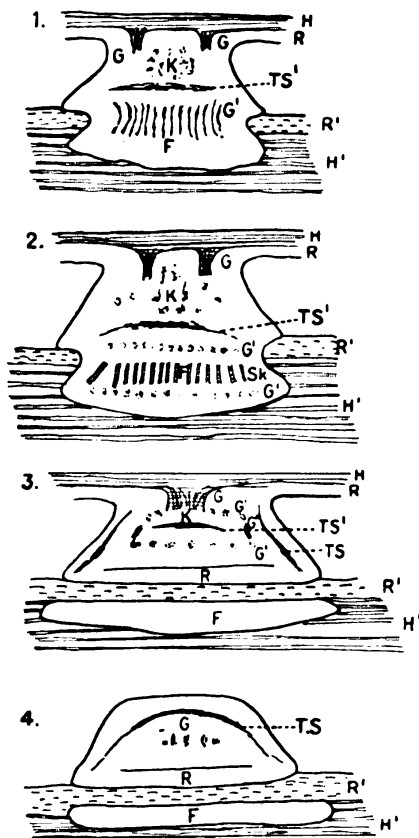


Fig. V.

Während sie in konz. Schwefelsäure zunächst gelbbraune Färbung annehmen und aufquellen, nach längerem Einwirken aber nur noch als schwarze Konglomerate uns entgentreten und in 50 Proz. Chromsäure bald schwinden, quellen sie in 25 Proz. Kalilauge stark auf, ohne selbst nach achtwöchentlichem Verweilen darin gelöst zu werden.

Die sklerenchymatischen Elemente sind demnach ziemlich stark verholzt. Stets sind sie sehr schön und deutlich geschichtet, stehen durch verzweigte Tüpfel miteinander in Verbindung und sind von einer körnigen, braunen Masse erfüllt, in der ein runder Körper liegt, allem Anscheine nach ein Zellkern, denn er färbt sich mit Methylgrün-Essigsäure grün, Safranin rot, Fuchsin rot, mit 25 Proz. Salzsäure aufgeköcht rötlich und zeigt nicht nur hierin, sondern auch in Form, Größe und Aufbau volle Übereinstimmung mit den Kernen des umliegenden Zellgewebes. Zu diesen Kernen gesellen sich in vielen Sklerenchymzellen ein oder mehrere Krystalle, die in Kalilauge und Essigsäure unlöslich, auf Zusatz von Salzsäure verschwinden, also Kalzium-oxalatgebilde darstellen.

Diese sklerenchymatischen Elemente scheinen mir in erster Linie der Festigung des Pflanzenkörpers zu dienen. Für diese Annahme spricht besonders ihre Anordnung und Verteilung im Haustorium. Da der selbständig assimilierende Schmarotzer nur in günstigen Lichtverhältnissen zur Entwicklung kommen kann, so treffen wir ihn vielfach an solchen Stellen an, wo er den Winden preisgegeben ist. Um daher nicht von seinem Wirte losgerissen zu werden, muß er eine feste Vereinigung mit diesem erstreben. Dieses wird wesentlich mit dadurch erreicht, daß sich in der Peripherie des Haustoriums selbst und an der Außenseite der Gefäßzüge im Fortsatze die sklerenchymatischen Elemente zu Fasern oder auch Platten vereinigen und so die Biegungs- und Zugfestigkeit an der Verbindungsstelle erhöhen.

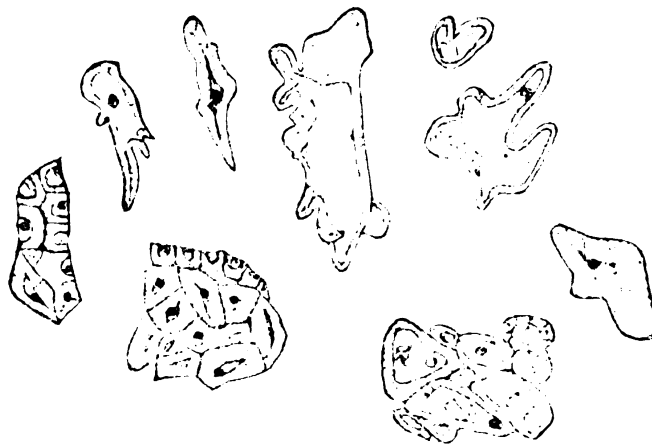


Fig. VI.

Nebenbei dienen die Sklerenchymzellen auch der Ablagerung von Nebenprodukten des Stoffwechsels; daher treffen wir gerade in ihnen Krystalle von oxalsaurem Kalk an, während sich dieser in den übrigen Geweben des Haustoriums nicht oder nur sehr vereinzelt vorfindet. Zur Speicherung von Reservestoffen scheinen die sklerenchymatischen Elemente nicht verwandt

zu werden. Unter allen Haustorien, die ich untersuchte, befand sich nur eines, dessen Sklerenchymzellen zum Teil Stärke gespeichert hatten; in allen übrigen Haustorien zeichnete sich gerade diese Art von Zellen durch den Mangel an der sonst so reichlich im Haustorium vorhandenen Stärke aus. Am ehesten könnten sie zur Wasserspeicherung herangezogen werden, die ja für den Haushalt dieses Parasiten von besonderer Wichtigkeit ist. Denn infolge seines Standortes ist der Parasit leicht dem Vertrocknen und damit dem Untergange preisgegeben. Wir finden daher bei Parasiten wie

bei Epiphyten vielfach Einrichtungen, die einer günstigen Wasserversorgung bzw. als Schutzeinrichtungen gegen zu große Wasserabgabe dienen¹⁾. So dürften vielleicht auch hier die in großer Zahl das Haustorium durchsetzenden sklerenchymatischen Elemente zum Teil auch als Wasserbehälter verwandt werden, um in Fällen der Not den Wasserbedarf der Pflanze zu ergänzen.

Die einzelnen Teile des Haustoriums bergen in verschiedenem Maße **Stärke** in Form von mehr oder minder kleinen Körnern. Das Holzparenchym der Mutterwurzel ist in der für die Parasiten und Epiphyten charakteristischen Weise vollkommen erfüllt davon; das Kernparenchym des Haustoriums sowie die von den Trennungstreifen nach innen zu gelegenen Rindenteile weisen ebenfalls Stärkereichtum auf. Die äußere Rindenschicht führt demgegenüber geringere Mengen von Stärke. Im Saugfortsatze ist im allgemeinen der Stärkegehalt gering; nur an der dem Holzzylinder des Wirtes zugekehrten Seite findet sich zuweilen eine starke Anhäufung davon. Vollkommen stärkefrei sind die Gefäße nebst den sie begleitenden meristematischen Zellzügen, ebenso die Trennungstreifen sowie die äußersten Zellreihen des Saugfortsatzes und fast alle sklerenchymatischen Elemente.

Auf Zusatz von Jodjodkalium färben sich sämtliche Körner blau; Amylodextrin-Stärke, die **Heinricher** in den Haustorien von *Lathraea Squamaria*²⁾ nachwies, war also in den untersuchten Haustorien von *Loranthus* nicht vorhanden.

Der Nachweis von **Plasmodesmen** gestaltete sich an dem vorliegenden Material schwierig, da der protoplasmatische Inhalt der Zellen vielfach geschrumpft war. Es stand mir nämlich neben den in Alkohol fixierten und konservierten Stücken nur noch in Carnoy'schem Alkohol-Eisessig-Chloroform fixiertes und dann in Alkohol-Glyzerin aufbewahrtes Material zur Verfügung. Trotzdem versuchte ich die Plasmodesmenfärbung mit Pyoktanin in der üblichen Weise³⁾. Es ließ sich hierdurch denn auch das Vorhandensein von protoplasmatischen Verbindungen zwischen den einzelnen Zellen des Haustoriums nachweisen. Niemals aber konnten Plasmodesmen zwischen Wirts- und Gastzellen festgestellt werden. Ebensowenig gelang mir dieses bei frischem *Viscum album* auf *Tilia* und *Robinia*, das ich aus diesem Grunde einer eingehenden Untersuchung unterzog. Diese Ergebnisse stehen somit in vollem Einklang mit den bisherigen Untersuchungen über Plasmaverbindungen bei Schmarotzerpflanzen⁴⁾ und liefern einen weiteren Beweis für das Fehlen einer derartigen Verbindung zwischen Schmarotzer und Wirtspflanze.

Wachstumsvorgänge und dadurch bedingte Abweichungen von dem regelmäßigen Aufbau.

Die zur Untersuchung gelangten Haustorien saßen der Rinde des Nährastes fest auf und waren teilweise bereits in sie eingedrungen. Es zeigte sich hier, daß zunächst im Haustorialkopfe eine geringe Zahl von Gefäßzügen ausgebildet wird. Zu dieser Zeit sind im Saugfortsatze noch keine Gefäße vorhanden; wir treffen hier in dessen parenchymatischem Grundgewebe

¹⁾ Koernicke, M., Biolog. Studien. p. 670/1.

²⁾ Heinricher, E., Saugorgane der Schuppenwurzarten. p. 343. f. f.

³⁾ Strasburger, E., Das botanische Praktikum. 4. Aufl. Jena 1902. p. 621.

⁴⁾ Vergl. hierzu: Reiche, K., Bau und Leben der hemiparasitischen *Phrygilanthus*-Arten (Flora. Bd. 97. 1907. p. 381) und

Strasburger, E., Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 36. 1901. p. 599).

nur die länglichen Meristemzellzüge vor. Erst wenn der Fortsatz eine größere Ausdehnung annimmt und mit dem Holzteile des Wirtes in Berührung kommt, gehen auch hier aus diesen Meristemzellen Gefäßelemente hervor, und hiermit ist dann eine Verbindung der Wasserbahnen der Mutterwurzel mit denen des Nährastes geschaffen.

Diesem Entwicklungsstadium entsprechen die im Vorstehenden des Näheren besprochenen Schnitte.

Über die jüngsten Entwicklungsstufen der den Rindenwurzeln entspringenden Haustorien kann ich leider, da an dem mir zur Verfügung stehenden Material diese Stadien nicht anzutreffen sind, nichts Näheres sagen. Ich konnte daher auch nicht feststellen, aus welchen Teilen der Rindenwurzel die einzelnen Teile des Haustoriums hervorgehen. Vielleicht vollzieht sich diese Entwicklung in der von Karsten¹⁾ für die primären Haustorien von Passowia beschriebenen Weise.

Durch die weiteren Wachstumsvorgänge wird nun der verhältnismäßig einfache Bau der Haustorien im Alter vielfach verwischt.

Wie wir im Vorstehenden sahen, befinden sich an der Außenseite der Gefäßzüge meristematische Streifen, die oben an das Kambium der Mutterwurzel anschließen, während sie sich nach unten hin in den Saugfortsatz fortsetzen. Auf dem Tangential-Querschnitte erkannten wir, daß diese Meristemstreifen nicht nur an der Außenseite der Gefäßzüge selbst lagern, sondern sich auch auf das dazwischenliegende parenchymatische Gewebe erstrecken, in gewissem Sinne dem Faszikular- und Interfaszikularkambium der Dikotyledonen vergleichbar. Es verläuft also ein geschlossener Kambiumring in dem Haustorium. Dieses Kambium lagert nach innen teils den Gefäßgruppen neue Gefäßelemente an, teils bildet es die diese trennenden parenchymatischen Gewebestreifen aus. Nach außen gibt es ebenfalls neue Elemente ab in Form von parenchymatischen Zellen und bildet eine sekundäre Rinde. Durch den bei der Neubildung dieser Elemente auftretenden Druck wird ein Teil der älteren Zellen in der Rinde zusammengepreßt, verliert seinen Inhalt und führt so zur Bildung der Trennungstreifen.

Weiterhin werden die äußeren Teile des Haustoriums immer mehr auseinander getrieben. Wir sehen daher auf Längsschnitten durch ältere Haustorien deren Ansatzflächen zuweilen vollständig aus ihrer ursprünglichen Lage verschoben, da sie durch den sich verbreitenden Haustorialkern von der Wirtsrinde losgesprengt werden. Zudem sprengt der Saugfortsatz häufig infolge seiner Größenzunahme die Rinde des Nährastes, von der dann Reste zwischen Ansatzfläche und Oberseite des Fortsatzes festgehalten werden. Das freigelegte Gewebe des Fortsatzes schließt sich durch Borkenbildung nach außen hin ab. (Siehe hierzu Abb. 2 der Tafel).

Hiermit aber sind die Mannigfaltigkeiten in der Ausbildung der Haustorien noch nicht erschöpft. Wie wir oben sahen, breitet sich der Saugfortsatz in der Kambiumschicht des Wirtes aus und sucht mit dessen wasserleitenden Bahnen in Verbindung zu treten. An einzelnen Stellen zerstört er hierbei das Kambium des Nährastes, an anderen wieder läßt er es vollkommen unversehrt. An diesen Stellen wird dann, da das Kambium unbehindert neuen Zuwachs weiterbilden kann, der Parasit in die Höhe gehoben. An den Stellen aber, an denen das Kambium zerstört ist, wird naturgemäß kein Zuwachs stattfinden; der Fortsatz kann hier mit dem Holzkörper des

¹⁾ Karsten, H., Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Lorantheen. (Bot. Zeitg. Jg. 10. 1852. p. 321. f. f.).

Wirtes in Verbindung treten bzw. bleiben und muß nur zu diesem Zwecke an diesen Stellen mit dem Dickenwachstume des Wirtes gleichen Schritt halten. Es kommt so zur Bildung keilförmiger Vorsprünge, die zuweilen tief in den Holzkörper des Nährastes hineinragen, und zu der Annahme verleiten können, der Parasit sei unter Zersetzung von bereits vorhandenem Gewebe hier in das Holz des Wirtes eingedrungen. Verfolgt man aber die eben mitgeteilte Entwicklung oder betrachtet das diesen Keil umlagernde, unter Einwirkung des Parasiten unregelmäßig ausgebildete Zuwachsgewebe, so wird man die Unzulässigkeit dieser Annahme einsehen.

Vereinzelte finden wir auch Haustorien, deren Quer-Längsschnitte in uns ähnliche Vorstellungen erwecken können. Wir sehen nämlich zuweilen Gewebestränge des Schmarotzers den Holzteil des Wirtes durchsetzen, um weiterhin wieder nach außen in die Rindenschicht des Nährastes einzutreten. Diese Bildungen sind jedoch auf folgende Ursache zurückzuführen. Der zwischen Holzkörper und Rinde des Wirtes sich seitlich eindringende Saugfortsatz kann hierbei stellenweise sich zwischen dessen Kambium und Holzkörper einschieben, ersteres auf seiner Außenseite emporhebend. Da das Kambium nun in seiner weiteren Tätigkeit an diesen Stellen die neuen Holzlagen auf den Fortsatz auflagert, so erscheint dieser nach einiger Zeit in den Holzkörper des Wirtes eingebettet. An den Stellen, wo der Parasit beim seitlichen Vordringen das Kambium wieder nach außen durchbrochen hat und gleichen Schritt mit dem Dickenwachstume des Wirtes hält, wird ihm natürlich kein Holz aufgelagert, und steht er hier wieder mit der Rinde des Wirtes in Verbindung. Es liegt also auch hier kein aktives Eindringen sondern ein passives Eingebettetwerden vor.

Andere Bilder wiederum kommen dadurch zustande, daß der Saugfortsatz sich zunächst dicht unter dem Periderm in der Rinde des Nährastes ausbreitet und dann erst aus diesem Fortsatze neue Gewebemassen gegen den Holzkörper des Wirtes vorschiebt. Diese breiten sich dann in dessen Kambiumzone aus und heben beim weiteren Wachstume den ersten, überlagerten Fortsatz nebst dem Zwischenstücke des Rindenparenchyms empor. Der ursprüngliche Fortsatz ist hiermit zur Anheftungsfalte geworden. Es kommt so zu den verschiedensten Ausbildungsformen des Haustoriums.

Es erübrigt noch, den Aufbau dieses auf der monokotylen Dracaena schmarotzenden Loranthus-Haustoriums mit dem dikotylen Wirtspflanzen aufsitzenden Lorantheen-Haustorium zu vergleichen.

Zu diesem Zwecke sei hier auf die bereits des häufigeren erwähnte Abhandlung von Solms-Laubach¹⁾ hingewiesen. Wir finden dort den Bau des dikotylen Wirtspflanzen aufsitzenden Lorantheen-Haustoriums wiedergegeben allerdings nur in seinen Hauptzügen, ohne daß auf Einzelheiten näher eingegangen wird. Vergleicht man nun in diesen Punkten den Aufbau jener Haustorien mit dem im Vorstehenden beschriebenen, so wird man finden, daß die Lorantheen-Haustorien in beiden Fällen — sei es auf Dikotyledonen oder auf der monokotylen Dracaena — nicht wesentlich voneinander abweichen.

Es ist dieses Verhalten für den vorliegenden Fall erklärlich, da wir ja bei Dracaena in Bezug auf den Aufbau des Pflanzenkörpers insofern ähnliche Verhältnisse wie bei den Dikotyledonen antreffen, als bei beiden

¹⁾ Solms-Laubach, H. Graf zu —, Das Haustorium der Lorantheen.

ein geschlossener Kambiumring den in der Mitte gelagerten Holzkörper umgibt. Bei *Dracaena* wird dieser Zentralzylinder allerdings von den in sich abgeschlossenen, mit Gefäß- und Siebteil versehenen Gefäßbündeln gebildet. Doch ist dieser Umstand für das Verhalten des Saugfortsatzes ohne wesentlichen Einfluß, da sich dieser vorwiegend in der saftreichen Kambiumschicht ausbreitet und den erstrebten Anschluß an die wasserleitenden Elemente des Wirtes in gleicher Weise wie bei den *Dikotyledonen* erlangen kann.

Einfluß des *Loranthus* auf die *Dracaena*.

Da der Saugfortsatz stets nur bis an das bereits durch sekundären Zuwachs gebildete Holz reichte, so fand ich den primären Teil des Holzkörpers der *Dracaena* stets vollkommen und gleichmäßig ausgebildet. Erst das nach dem Eindringen des Saugfortsatzes neu erzeugte Holz weist Unregelmäßigkeiten und Störungen in seinem Aufbau auf. Es wurde ihrer bereits zum Teil bei der Besprechung des Quer-Längsschnittes Erwähnung getan. Die einzelnen Holzelemente werden durch den sich ausdehnenden Saugfortsatz aus ihrer ursprünglichen Lage gebracht oder erleiden schon bei ihrer Anlage unnatürliche Ausbildung. Der Zuwachs wird an einzelnen Stellen, wo das Kambium zerstört ist, vollkommen unterbrochen; an anderen Stellen wiederum tritt das Kambium infolge des vom Schmarotzer verursachten Reizes in gesteigerte Tätigkeit. Die Bildung der Gefäßbündel wird stellenweise ganz aufgegeben und statt dessen nur noch parenchymatisches Grundgewebe gebildet, das verholzt und, gleich dem normalen Grundgewebe in Radialreihen angeordnet, sich von diesem nur durch die Größe der einzelnen Zellen beträchtlich unterscheidet. Es finden diese Bildungen besonders an den Stellen statt, wo die bereits des Näheren besprochene gelbe Masse in größerer Menge auftritt, wo sich also eine zersetzende Tätigkeit des Schmarotzers geltend macht. Es scheint, daß diese Zellen während des zerstörenden Einflusses des Parasiten als eine Art Schutzgewebe gegen diesen gebildet werden. Die Zellen des Rindengewebes werden in der Nachbarschaft des Fortsatzes zum Teil ebenfalls übermäßig groß ausgebildet. Durch den Druck, den das sich vermehrende Gewebe des vordringenden Fortsatzes ausübt, wird zudem das Rindengewebe des Nährastes zuweilen eine Strecke weit auseinandergesprengt. Die hierdurch entstandenen Lücken werden — soweit sie nicht vom Schmarotzergewebe durchdrungen werden — von seiten des Wirtes mit großzelligem, schwammigem Gewebe erfüllt.

Daneben treten noch andere Erscheinungen zutage, die als Abwehrmaßregeln von Seiten des Wirtes aufzufassen sind. An den befallenen Stellen treffen wir in der Wirtsrinde starke Anhäufungen von Raphidenbündeln an, die dem Saugfortsatz das Vordringen natürlich erschweren. Die den Angriffsstellen benachbarten Gefäße des Wirtes werden zum Teil mit einer Art Schutzgummi erfüllt.

Ist es der *Dracaena* gelungen, sich des eingedrungenen Schmarotzers zu erwehren, oder wird das Haustorium durch irgend eine Ursache zerstört, so schließen sich die durch das Eindringen des *Loranthus* entstandenen Lücken im Wirtsaste — wie uns Querschnitte durch solche Stellen zeigen — durch Überwallen von den Seiten her wie beim Verschließen von Astwunden.

Über die Art der Nährstoffaufnahme durch das Haustorium.

Um festzustellen, ob die *Loranthaceen* ihrem Wirt nur anorganische Nahrung entziehen, oder ob sie nicht auch von den vorhandenen organischen Stoffen zehren, untersuchte ich die Haustorien zunächst eingehend auf das Vorhandensein von Siebröhren hin. In keinem Falle jedoch gelang es mir, irgendwelche Anhaltspunkte für deren Anwesenheit zu erhalten. Die Siebröhren der Mutterwurzel, die sehr zart und daher verhältnismäßig schwierig nachzuweisen sind, treten nicht in das Haustorium ein¹⁾. Auch ein Anschluß einzelner Parenchymzellen des Saugfortsatzes an die Siebteile des Wirtes, die ja bei *Dracaena* im sekundären Zuwachse von dem Gefäßteile umgeben sind, war trotz sorgfältiger Prüfung nirgends nachzuweisen.

So scheint es denn zunächst, daß sich der Schmarotzer mit der Entnahme der noch unverarbeiteten rohen Baustoffe begnügt, denn er tritt ja, wie wir gesehen, nur mit seinen wasserleitenden Bahnen in direkte Verbindung mit den entsprechenden Leitungsbahnen des Wirtes. Hierbei aber könnten ihm schon neben den von der Wirtspflanze aus dem Boden aufgenommenen Nährsalzen auch die gelösten Assimilate zugute kommen, die besonders zu Beginn der Vegetationsperiode zwecks rascher Zuführung zu den Vegetationspunkten aus dem Holzparenchym und den Markstrahlen in die Leitungsbahnen hineingepreßt werden²⁾.

Betrachten wir zudem das Verhalten der papillenartig vorgestülpten Randzellen des Saugfortsatzes, so können wir uns des Eindrucks nicht erwehren, daß der Parasit — wenn auch in beschränktem Maße — seinem Wirt auch organische Stoffe entnimmt. Es überrascht jedenfalls die Ähnlichkeit in der morphologischen Ausgestaltung dieser Randzellen mit den Zellen des Skutellums der Gramineenkeimlinge und deutet mit auf einen derartigen Einfluß hin. Wie bei dem Gramineenkeimlinge die Zellen des Skutellums sich gegen das Endosperm vorstülpen und mit Hilfe von Enzymen die dort aufgespeicherten Reservestoffe lösen und dem Keimlinge zuführen, so wirken auch an dem Saugfortsatze des Haustoriums die sich vorstülpenden Zellen des Parasiten lösend auf die Wirtszellen und deren Inhalt ein und dürften aus der hierbei gebildeten, bereits des häufigeren erwähnten gelben Masse organische Stoffe entnehmen.

Für die Aufnahme dieser Zersetzungsprodukte spricht auch eine meines Wissens bisher noch nicht bekannte Eigenschaft des Parasiten. Im Laufe der Untersuchung drängte sich mir die Frage auf, ob das Parasitengewebe wohl eine größere osmotische Kraft aufzuweisen habe, als das von ihm in Anspruch genommene Wirtsgewebe.

Da mir lebendes Material von *Loranthus sphaerocarpus* nicht zu Gebote stand, so prüfte ich daraufhin die hier einzig lebend vorkommende *Loranthacee Viscum album*. Ich fertigte Schnitte durch

¹⁾ Vergl. hierzu:

Barber, C. A., Studies in root-parasitism. The haustorium of *Cansjera Rheedii*. (Mem. of the Departm. of Agricult. in India. Vol. 2. 1908. Bot. Ser. p. 19, 23).

Koch, L., Zur Entwicklungsgeschichte der Rhinanthaceen. 2. *Euphrasia officinalis* L. (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 22. 1891. p. 18).

Peirce, G. J., On the Structure of some phanerogams Parasites. (Ann. of Bot. Vol. 7. 1893. p. 317).

Strasburger, E., Plasmaverbindungen. p. 598.

²⁾ Strasburger, E., Leitungsbahnen. p. 877. f. f.

von *Viscum* befallene Äste an und legte sie in eine Kalisalpeterlösung, die so gewählt war, daß sie eben genügte, um bei den Wirtszellen ein Abheben des Plasmabelages von den Zellwandungen hervorzurufen. Die Zellen des Schmarotzers zeigten sich dann in beiden Fällen — zur Untersuchung gelangte *Viscum* auf *Tilia* und *Robinia* — auch nach längerem Einwirken der Kalisalpeterlösung noch vollkommen normal; der Plasmabelag lag der Membran fest an. Um auch in diesen Zellen Plasmolyse hervorzurufen, mußten die Kalisalpeterlösungen verstärkt werden. Wenn dann die Plasmolyse in den Schmarotzerzellen eben begann, zeigte sich der Inhalt der Wirtszellen bereits deutlich geschrumpft.

Das untersuchte *Viscum album* besitzt also in seinem Zellinhalte eine größere osmotische Kraft, als die angrenzenden Gewebe der Wirtspflanzen. Durch diese Kraft verfügt der Schmarotzer über ein nicht zu unterschätzendes Mittel, sich neben der direkten Anschlußmöglichkeit an die Leitungsbahnen des Wirtes auch noch auf endosmotischem Wege Nährstoffe des Wirtes anzueignen.

Obgleich es mir nun aus dem bereits mitgeteilten Grunde unmöglich war, auch tropische Loranthaceen daraufhin zu untersuchen, so möchte ich doch auch diesen die gleiche Fähigkeit zuschreiben, zumal die morphologischen Verhältnisse der Saugorgane beider so nahe übereinstimmen; zudem finden wir wie bei *Viscum* so auch bei *Loranthus* die an das Wirtsgewebe anstoßenden Zellen papillenartig vorgestülpt, plasmareich und mit großem Zellkern ausgestattet.

Hierdurch gewinnt dann auch folgende Beobachtung ihre einfache Erklärung. Wie ich nämlich in besonders schöner Weise an Schnitten durch Keimlinge, die sich auf Blättern von *Dracaena* angesiedelt hatten, und die mir von Herrn Prof. M. Koernicke zur Einsicht überlassen wurden, sehen konnte, stülpen sich hier einzelne Zellen des Parasiten in die Zellumina des benachbarten parenchymatischen Wirtsgewebes vor. Durch diesen Vorgang wird naturgemäß die Berührungsfläche zwischen Schmarotzer- und Wirtsgewebe vergrößert und dementsprechend die Endosmose gefördert. Da nun die Stoffaufnahme der auf Blättern angesiedelten Keimlinge unter besonders ungünstigen Bedingungen stattfindet, so ist hierin eine Anpassung an diese Verhältnisse zu erblicken, und ist es daher auch erklärlich, daß dieses Vorstülpen einzelner Zellen gerade bei den auf Blättern angesiedelten Keimlingen so deutlich hervortritt, während es bei den in einen Ast eingedrunghenen Haustorien, wo die Nahrungszufuhr erheblich reichlicher ist, nur in geringerem Maße beobachtet wird.

Daß die *Loranthaceen* befähigt sind, ihren Wirtspflanzen auch organische Stoffe zu entziehen, darauf deutet auch das Verhalten derjenigen Keimlinge hin, deren Gipfelknospe verloren gegangen ist. Diese können, wenn ihr Senker die Rinde durchdrungen, jahrelang innerhalb der Wirtes fortwachsen, ohne an dessen Oberfläche weder Stamm noch Blätter zu bilden; erst später treten Adventivknospen auf, aus denen sich dann der Schmarotzer weiter entwickelt¹⁾.

Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind kurz zusammengefaßt:

1. Das Haustorium besitzt zwischen Kern- und

¹⁾ Pitra, A., Anheftungsweise einiger phanerogamen Parasiten. p. 58.

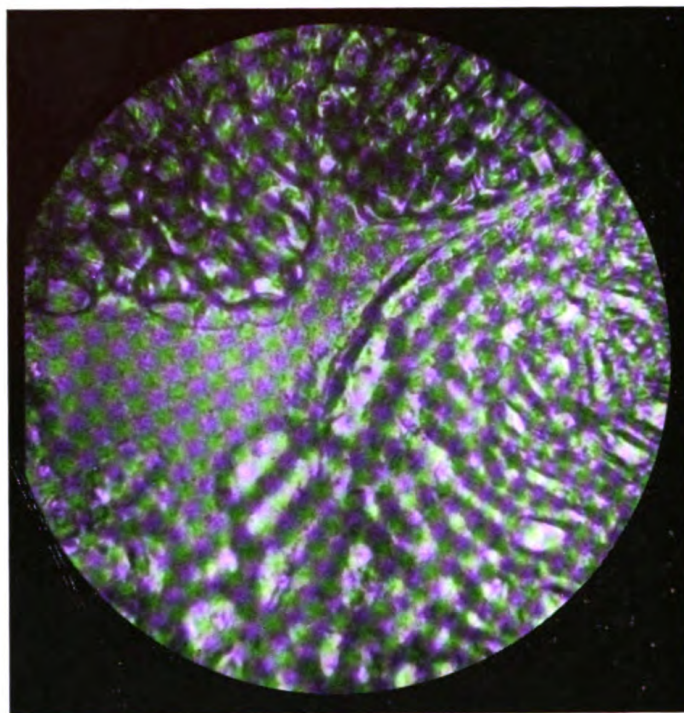


Fig. 1.



Fig. 2.

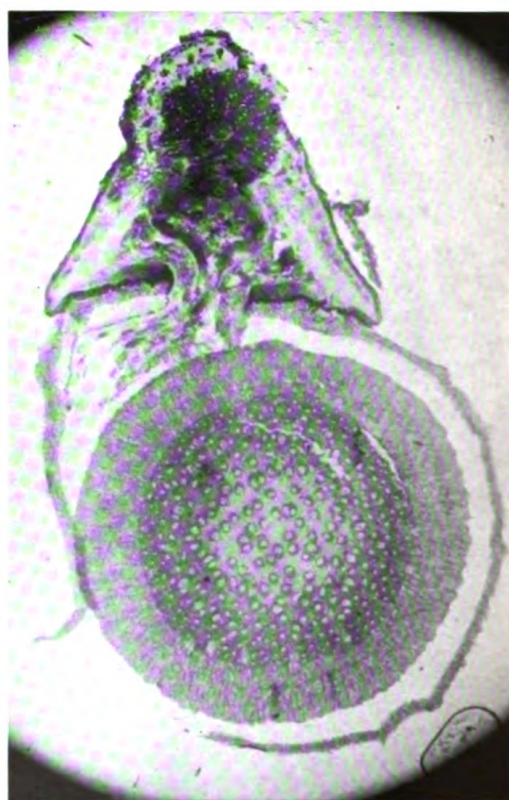


Fig. 3.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Rindenteil einen Kambiumring, durch den es sein Dickenwachstum vollzieht.

2. Das Haustorium tritt nur mit den wasserleitenden Elementen der Wirtspflanze in Verbindung.

3. Siebröhren konnten im Haustorium nicht nachgewiesen werden; ebenso wenig irgendwelcher Anschluß an die Siebröhren des Wirtes.

4. Das Gewebe der Senker von *Viscum album* besitzt eine größere osmotische Kraft als das benachbarte Wirtsgewebe.

5. Der Saugfortsatz übt einen — wenn auch geringen — zersetzenden Einfluß auf das Wirtsgewebe aus. Hierbei werden aller Wahrscheinlichkeit nach auf osmotischem Wege von Seiten des Parasitengewebes organische Stoffe entnommen.

6. Plasmodiesmen zwischen Wirts- und Parasitenzellen waren nicht nachzuweisen.

7. Das Haustorium von *Loranthus* auf *Dracaena* zeigt in seinem Aufbau keine wesentlichen Abweichungen von dem auf Dikotyledonen schmarotzenden.

Botanisches Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Akademie
Bonn-Poppelsdorf.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Schnitt aus der Grenze zwischen Wirts- und Parasitengewebe. Es sind die in Zersetzung begriffenen Holzelemente des Wirtes (unten) nebst der hierbei gebildeten „gelben Masse“ und die in dieser vordringenden Haustorialgewebe deutlich erkennbar.

Fig. 2 und Fig. 3 sind Quer-Längsschnitte des Haustoriums nebst Tragast.
(Nähere Beschreibung befindet sich im Text.)

Nachdruck verboten.

Einwirkung einiger basischer Stoffe auf Keimpflanzen, Vergleich mit der Wirkung auf Mikroorganismen.

Von Prof. Dr. Th. Bokorny.

Verfasser hat schon öfters und auch neulich wiederum (Arch. f. Zellforschung 1911) darauf hingewiesen, daß Ammoniak, Kaffein und andere Basen eine Proteosomenbildung, Kontraktionserscheinungen usw. bewirken, ohne zunächst das Leben zu vernichten. Die Veränderung kann durch Einbringen der Zellen in reines Wasser wiederum ausgeglichen werden. Die Proteosomenbildung usw. tritt schon bei großer Verdünnung der Base, wie 0.01 Proz. und noch weniger, ein. Also muß die Reaktion zwischen Ammoniak usw. und dem Protoplasmaweiß eine sehr „empfindliche“ sein. Nimmt man von vorneherein stärkere Konzentrationen wie 1 Proz. oder mehr, so gelingt die Proteosomenbildung nicht.

Diese merkwürdige Ammoniakwirkung brachte mich auf den Gedanken, die Wirkung des Ammoniaks und anderer Basen auf Keimpflanzen und den Verlauf des Keimungsvorganges zu studieren und die erhaltenen

Resultate dann mit den früher an Algen, Infusorien, Amöben, höheren Pflanzen usw. erhaltenen zu vergleichen. Wenn auch die sogenannte „Aggregation“ (Proteosomenbildung, Kontraktion des Plasmas oder der Vakuolenwand) nicht bei allen Zellen durch geeignete Verdünnungen von Ammoniak, Kaffein usw. erreicht werden kann, so ist doch wahrscheinlich, daß alles Plasma innerlich, wenn auch unsichtbar, durch diese Reagention beeinflußt wird; zuerst wird es in einem anderen Quellungszustand versetzt, ohne abzusterben, die Moleküle des aktiven Albumins erfahren dabei vermutlich eine Aneinanderlagerung zu größeren Molekülen ohne chemische Umlagerung und sonstige wesentliche Verwandlung, dann erst tritt Giftwirkung ein, indem das Ammoniak, das Kaffein usw. sich allmählich in größerer Menge an das Plasmaeiweiß anlagern.

Wenn diese Vorstellung richtig ist, so muß durch Einquellen und Keimenlassen von Samen in sehr verdünnten Lösungen der Basen eine verschieden-gradige Störung des Keimungsvorganges zu erreichen sein, deren Ausgiebigkeit von der Empfindlichkeit des Plasmas gegen sehr verdünnte Lösungen von Ammoniak abhängt. Zu starke Lösungen mußten den Keimungsvorgang aufheben durch Abtötung des Plasmas.

Es soll durch folgende Keimungsversuche gezeigt werden, ob hier ein gewisser Parallelismus mit den früher beobachteten Ammoniakwirkungen und Reaktionen anderer Basen besteht. Da Ammoniak bei außerordentlich großen Verdünnungen noch „Aggregation“ hervorruft, so muß dasselbe auch bei größeren Verdünnungen wie andere Basen die Keimung verzögern bzw. sistieren.

Der Neubildungsvorgang, die Entstehung neuer Zellen und damit das andauernde Wachstum des Keimlings ist bekanntlich in der meristematischen und lebenden Beschaffenheit der Wurzelspitzen und anderer Vegetationspunkte begründet. Die Wurzel ist meist dasjenige Organ, das zuerst infolge der Neubildungen am Wurzelvegetationspunkt und infolge der Streckung der entstandenen Zellen aus der Samenschale hervortritt. An ihr kann die Einwirkung der Basen zuerst beobachtet werden.

Damit diese sicher sogleich stattfindende, müssen die Wurzelspitzen während des Keimungsvorganges in die Lösung der Base eintauchen.

Das ist leicht dadurch zu erreichen, daß man die Keimung in Keimschalen in der gewöhnlichen Weise vornimmt und den mit Fließpapier bedeckten Boden des Gefäßes mit so viel Lösung bedeckt, daß diese 2—3 mm hoch in der geräumigen mit übergreifendem Deckel versehenen Schale steht. Da Luft genug zur Verfügung steht, geht die Keimung mehrere Tage hindurch gut vor sich, wenn es die im Keimungswasser aufgelösten Basen gestatten. Durch gleichzeitiges Ablesen der Größenverhältnisse der Keimlinge beim Kontrollversuch (ohne Base) und dem Basenversuch kann ermessen werden, wie die Base auf den Keimungsvorgang wirkt.

Nach einigen Tagen stellt sich gerne Fäulnis an einzelnen in der Keimung zurückgebliebenen Samen ein; um das zu verhindern, mischt man den auszusäenden Samen zweckmäßig viel Kressensamen bei, der durch das von ihm entwickelte scharf riechende Senföl antiseptisch auch auf die benachbarten Samen anderer Art wirkt. Dadurch gelingt es, den Versuch länger reinzuhalten, als es sonst der Fall wäre. Auch kann an der Kresse selbst die Wirkung der Base erprobt werden.

Kresse Kontrollversuch, Keimung in Brunnenwasser: Die Samen wurden auf Fließpapier gelegt, das mit Brunnenwasser stark angefeuchtet und in einer Glasschale

von 25 cm Durchmesser und 7 cm Höhe mit flachem Boden und übergreifendem Deckel ausgebreitet war. Nach 24-stündigem Stehen war die Keimung bereits sichtbar. Nach 60 Stunden war bei vielen Keimlingen die Wurzel bereits 3 cm lang, das hypokotyle Stengelglied 1 cm. Nach 5 Tagen Wurzel durchschnittlich 10 cm lang, hypokot. Glied 3—4 cm.

Kresse, Keimung in Wasser, dem 0,05 Proz. Ammoniak zugesetzt war: Nach 60 Stunden war aus vielen Samen die Wurzel noch gar nicht hervorgetreten, im günstigsten Falle betrug ihre Länge 0,3 cm. Das hypokotyle Stengelglied war nirgends sichtbar. Nach 5 Tagen war kein Wachstum zu bemerken, die Keime waren tot.

Kresse, Keimung in Wasser, dem 0,01 Proz. Ammoniak zugesetzt worden war: Nach 60 Stunden fast alle gekeimt, die Wurzel günstigsten Falls 1,5 cm lang, das hypokotyle Stengelglied meist sichtbar, höchstens 0,5 cm lang. Nach 5 Tagen Wurzel durchschnittlich 5 cm lang, hypokotyles Stengelglied 2,5 cm.

Durch 0,05 Proz. Ammoniak wird also die Keimung der Kresse unterdrückt, durch 0,01 Proz. merklich verlangsamt.

Kresse, Kontrollversuch, (zum Natron- und Kali-Versuch) Keimung in Brunnenwasser: Etwa 100 Kressenkörner wurden wie vorhin in Glasschalen zur Keimung ausgelegt. Dazu wurden noch 20 Gerstensamen gebracht.

Zu diesem Kontrollversuch wurden 2 Versuche mit 0,01 Proz. NaOH (aus Natronlauge hergestellt) und 0,002 Proz. NaOH aufgestellt; da sich kein Ausschlag ergab, erneuerte ich die Versuche mit frischem kohlensäurefreiem Ätznatron und etwas stärkerer Konzentration.

Kresse, Keimung in Wasser mit 0,1 Proz. Natriumhydroxyd-Zusatz: Merkwürdigerweise unterblieb die Keimung nicht, sondern erfolgte ungefähr ebenso intensiv wie beim Kontrollversuch. Bei 0,05 Proz. Natriumhydroxyd war sogar einige Beschleunigung und Förderung des Keimungsvorganges zu bemerken, namentlich bei der dem Versuch beigemischten Gerste. Der Versuch mit 0,01 Proz. Natriumhydroxyd unterschied sich gar nicht von dem Kontrollversuch.

Es besteht also ein bedeutender Unterschied zwischen der Wirkung des Ammonium- und des Natriumhydroxydes. Letzteres ist weitaus weniger schädlich, da hier nicht einmal 0,1 Proz. die Keimung zu verlangsamen oder gar zu unterdrücken vermag, während bei 0,05 Proz. Ammoniak die Keimung verlangsamt und bald ganz unterdrückt wird.

Dieses merkwürdige Verhalten der Kresse gegen Ammoniumhydroxyd gab mir Veranlassung, auch noch andere Samen in verdünnten Lösungen dieses Stoffes keimen zu lassen; so die Samen vom Weizen, von der Gerste, der Gartenbohne, der Wicke, der Erbsenpflanze, des Hanfes.

0,01-proz., 0,025-, 0,05- und 0,1-proz. Lösungen wurden von Ammoniak hergestellt; d. h. aus einer käuflichen Lösung, welche nach Ausweis der araeometrischen Probe 21 Proz. NH_3 enthielt, wurden durch Verdünnung mit destilliertem Wasser obengenannte Lösungen erhalten. Die genannten Verdünnungen entsprechen ungefähr der doppelt so starken Ammoniumhydroxyd-Lösung, da das Molekulargewicht von NH_3 17, das von NH_4OH 35 ist. Also sind es 0,02-, 0,05-, 0,1- und 0,2-proz. Lösungen von Ammoniumhydroxyd.

Nur in 0,02-proz. Lösung des NH_4OH ging die Keimung noch etwas vor sich bei den sämtlichen angewendeten Samen, sie blieb aber weit hinter der eines gleichzeitig aufgestellten Kontrollversuches zurück. Bei allen andern Versuchen war von einer Keimung überhaupt nichts zu bemerken. Die Gerste wollte sogar bei 0,02 Proz. NH_4OH nicht mehr recht keimen (binnen 3 Tagen), während die Weizenkörner etwas besser auskeimten aber doch hinter dem Kontrollversuch auch bedeutend zurückblieben.

Zum Vergleich wurden nun auch Ammonsalze herangezogen.

In 0,25 Proz. Ammonsalpeter keimten binnen 3 Tagen bei 18° C: Gerste, Wurzel ca. $\frac{3}{4}$ cm, oberirdischer Teil $\frac{1}{2}$ cm lang; Erbsen, Wurzel $\frac{1}{2}$ cm

lang, Weizen, Wurzel bis 2 cm lang; Wicke, Wurzel $\frac{1}{2}$ cm lang; Kresse, Wurzel $\frac{1}{2}$ cm, Stengel $\frac{1}{2}$ cm. Nach 6 Tagen diese Keimlänge bedeutend voran gegen folgenden Versuch.

In 1 Proz. Ammonsalpeter waren binnen 3 Tagen bei 18° C die Keimresultate: Gerste, viele noch ungekeimt oder Wurzel oben sichtbar, 1—2 mm lang; Wicke, Wurzel 4 mm lang; Kresse, Wurzel 1—2 mm lang; Weizen, viele noch ungekeimt, Wurzel höchstens 1 mm lang. Nach 6 Tagen Keime durchschnittlich halb so lang wie bei 0,25 Proz. Salpeter.

In 0,25 Proz. Ammonsulfat keimten binnen 3 Tagen bei 18° C: Gerste gerade beginnend, indem das Würzelchen 1 mm weit hervorstand; ebenso Weizen; Erbse, Wurzel 1 mm lang; Wicke, noch nicht; Kresse, Wurzel $\frac{1}{2}$ mm lang; Hanf, Wurzel $\frac{3}{4}$ cm lang.

In 1 Proz. Ammonsulfat binnen 3 Tagen: Ähnlich wie vorhin. Nach 6 Tagen aber waren die Keimlinge dieses Versuches etwas zurück gegen die des Versuches mit nur 0,25 Proz. Ammonsulfat. Z. B. maßen die Gerstenkeime hier nur $\frac{1}{2}$ —1 cm, bei 0,25 Proz. Ammonsulfat aber 2—2,5 cm (oberirdische Teile).

0,5 Proz. Ammonkarbonat: Nach 4 Tagen Aufenthalt in Zimmertemperatur zeigten die Samen, die in diese Lösung gebracht worden waren, nur hier und da Anfänge von Keimung; einige Kressen- und Hanf-samen hatten eine 0,5 cm lange Wurzel getrieben, die übrigen (Gerste, Weizen, Erbse, Bohne usw.) zeigten noch keine Spur von Keimung.

0,25 Proz. Ammonkarbonat: Das Keimungsbild war nach 4 Tagen fast ebenso wie bei vorausgehendem Versuche (mit 0,5 Proz.); nur zeigten sich hier auch einige Erbsensamen schwach gekeimt, ebenso ein paar Wickensamen.

0,1 Proz. Ammonkarbonat: Nach 6 Tagen waren Erbsen, Bohnen, Weizen, Gerste, Kresse, Hanf, Wicke gekeimt. Wurzel bei Erbsen 0,5—1 cm lang; bei Weizen Wurzel 1—2,5 cm, Keim 0,5—1 cm lang; bei Gerste Wurzel bis 1 cm, Keim bis 0,25 cm lang; bei Kresse Wurzel 1—2 cm, Keim bis 5 mm lang; bei Wicke Wurzel bis 2 cm lang; bei Hanf ebenso.

In 0,05 Proz. und in 0,025 Proz. Ammonkarbonat zeigten sich nach 4 Tagen ebenfalls alle Samen gekeimt, die Keimlinge waren in beiden Fällen nicht erheblich weiter entwickelt als bei 0,1 Proz. und unter sich (in 0,05 und 0,025 Proz.) gleich.

Nach 8 Tagen waren in 0,5 Proz. Ammonkarbonat die meisten Samen mit Fäulnismassen bedeckt; die nach 4 Tagen gekeimt gewesenen zeigten sich nur ganz wenig in der Keimung fortgeschritten. Die Keimlinge in 0,1 Proz. und 0,05 Proz. und 0,025 Proz. Ammonkarbonat wurden ebenfalls noch weiter beobachtet, sie zeigten nach 12 Tagen eine normale Entwicklung, fast alle Samen waren gekeimt.

Das Ammonkarbonat erweist sich also schon von 0,1 Proz. an soviel wie unschädlich für Keimlinge. Das im Handel befindliche Ammonkarbonat hat aber nicht die Formel $(\text{NH}_4)\text{CO}_3$, ist vielmehr ein Gemenge von $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ und $\text{CO—O}(\text{NH}_2)$ dem Ammoniumkarbonat, welches letzteres sich von der Karbaminsäure CO—OH ableitet. Beim Liegen an der Luft bleibt schließlich saures Ammonkarbonat $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$, zurück. Das ist natürlich bei Berechnung der Konzentrationen in Anschlag zu bringen. Ich habe deshalb die sonst fast aussichtslos erscheinende Konzentration 0,5 Proz. auch mit versucht. Die Keimung mißlang aber, wie oben angegeben. Es ist also trotz der schwächer alkalischen Reaktion noch eine entschieden lebensfeindliche Wirkung zu bemerken, was wohl damit zusammenhängt, daß das Ammonkarbonat freies Ammoniak abspaltet (es riecht nach Ammoniak) und damit jenen keimungsfeindlichen Stoff produziert, dessen Wirkung oben beschrieben wurde.

Das Kaliumhydroxyd gilt als noch stärkere Base wie Ammoniumhydroxyd und Natriumhydroxyd. Doch ist die Wirkung auf Keimlinge bedeutend schwächer als die des Ammoniumhydroxydes, wie folgende Versuche zeigen:

KOH 0,5¹⁾ Proz.: In dieser Flüssigkeit zeigte sich nach 40 Stunden: Kresse gar nicht gekeimt; Weizen nur in 2 Körnern von 10 schwach gekeimt (Würzelchen 1 mm lang); Gerste gar nicht gekeimt; Feuerbohnen zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel 5 mm lang; Hanf zu 30 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 mm lang; weiße Bohne gar nicht gekeimt; Erbse gar nicht gekeimt; Wicke gar nicht gekeimt.

Nach weiteren 24 Stunden zeigten sich die bereits gekeimten Samen

¹⁾ Diese und die folgenden Lösungen wurden mit frischen schön kristallinischen Kalistangen hergestellt.

etwas in der Keimung fortgeschritten. Demnach ist wohl erst von 1 Proz. Lösungen die völlige Aufhebung des Keimungsvorganges zu erwarten.

KOH 0,25 Proz.: In dieser Lösung waren nach 40 Stunden: Von Kresse 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 mm lang; von Weizen 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 mm lang; von Gerste 50 Proz. gekeimt, Wurzel 1 mm lang; Feuerbohne zu 50 Proz. gekeimt; Hanf zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 mm lang; weiße Bohne noch nicht gekeimt; Erbse zu 20 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 mm lang; Wicke noch nicht gekeimt.

Nach weiteren 24 Stunden fast alle Kressen gekeimt; Weizenwurzeln bis 8 mm lang, Keim hervortretend etc. Keimung überall fortschreitend; Feuerbohnen nun alle gekeimt.

KOH 0,1 Proz.: Kresse nach 40 Stunden zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 12 mm lang; Weizen zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 12 mm lang, auch Keime bei manchen hervorgetreten; Gerste zu 40 Proz. gekeimt; Feuerbohnen zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 mm lang; Hanf zu 75 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 mm lang; Erbse zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 mm lang; Wicke zu 30 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 mm lang.

Nach weiteren 24 Stunden war die Keimung energisch vorgeschritten. Wurzeln und oberirdische Teile bedeutend länger. Die Feuerbohnen waren nun sämtlich gekeimt etc. Man merkte keinen nachteiligen die Keimung verzögernden Einfluß mehr.

KOH 0,05 Proz.: Kresse nach 40 Stunden zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 15 mm lang; Weizen zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 15 mm lang, auch der Keim bei vielen hervorgetreten; Gerste zu 50 Proz. gekeimt Wurzel bis 6 mm lang; Keim eben hervortretend; Hanf zu 75 Proz. gekeimt, Wurzel bis 6 mm lang; Erbse zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 10 mm lang; Wicke zu 35 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 mm lang; Weiße Bohne noch nicht gekeimt.

Nach weiteren 24 Stunden Keimung entsprechend vorgeschritten. Die Teile der Pflanzen waren noch etwas länger als bei 0,1 Proz. KOH. Bei 25 Proz. der weißen Bohnen nun Keimung sichtbar.

KOH 0,025 Proz.: Kresse nach 40 Stunden zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 15 mm lang, Knospchen entfaltet; Weizen zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis 15 mm lang, Keim bis 8 mm lang; Gerste zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 10 mm lang; Bohne (weiße) zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel bis 8 mm lang; Hanf zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 12 mm lang, Kotyledonen im Entfalten; Wicke zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 mm lang; Erbse zu 75 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1,5 cm lang.

Nach weiteren 24 Stunden Keimung entsprechend weiter vorgeschritten. Erbsenwurzel z. B. bis 2,5 cm lang.

KOH 0,01 Proz.: Kresse nach 40 Stunden zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 15 mm lang, Knospchen entfaltet; Weizen zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis 15 mm lang, Keim bis 8 mm; Gerste zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 10 mm lang; Bohne (weiße) zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel bis 8 mm lang; Hanf zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 12 mm lang; Wicke zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 mm lang. Feuerbohne nicht gekeimt.

Nach weiteren 24 Stunden Keimung entsprechend weiter voran. Feuerbohne nun keimend. Bei Kressen, Weizen etc. nehmen die Keimtriebe bereits eine bestimmte parallele Richtung ein, wie sie durch Gravitation und Lichteinfall bedingt wird.

Anilin, CH_3NH_2 . Das Anilin steht in naher Beziehung zum Ammoniak, es ist ein Ammoniak, in welchem 1 Wasserstoffatom durch die einwertige Phenylgruppe C_6H_5 ersetzt ist. Anilin ist eine organische Base, welche gleich den Aminen mit Säuren Salze bildet, aus denen es durch Alkalien wieder abgeschieden wird. Das Anilin wie auch die Aniline im allgemeinen sind weit schwächere Basen als die Alkylamine, da die Phenylgruppe einen mehr negativen Charakter besitzt, die Aniline reagieren auch nicht alkalisch. Das Anilin ist eine farblose Flüssigkeit, von schwachem eigentümlichen Geruch, die bei 183° siedet; etwas schwerer wie Wasser (0,136). In Wasser ist es bei 12° zu 1 : 31 löslich, leicht löslich in Alkohol. Erstere Löslichkeit erschien für meine Versuche völlig auszureichen, weshalb ich rein wässrige Lösungen ohne Zusatz von Alkohol herstellte.

Anilin 0,1 Proz.: Nach 40 Stunden zeigten einige Hanfkörner deutliche Keimung (Wurzel bis 3 mm), etwa 30 Proz. der ausgelegten Hanfkörner waren es; Kressensamen wiesen zu etwa 90 Proz. geringe Anfänge von Keimung (schwaches Aufklaffen der Samenschale) auf. Alle übrigen Samen (Gerste, Weizen, Wicke, Feuerbohne, weiße Bohne, Erbse) waren noch ungekeimt.

Nach 96 Stunden verhielt es sich noch ebenso, die Samen waren nicht weiter

entwickelt. Also scheint 0,1 Proz. Anilin eine tödliche Wirkung zu äußern. Einige Samen (vom Hanf und Kresse) keimen zwar anfangs, bleiben aber dann in der Entwicklung stehen.

Auch machte sich keinerlei Pilzbildung geltend, die sonst (als Schimmel und Bakterien) so gerne auftritt. Erst nach 6 Tagen zeigte sich bei zwei Erbsen Bakterienzersetzung, welche eine Isolierung der Zellen und Stärkekörner bewirkte und somit auf ein zelluloselösendes Ferment schließen läßt.

Kontrollversuch ohne Anilin: Nach 40 Stunden waren die Hanfkörner zu 75 Proz. gekeimt, Wurzel bis 6 mm lang; Kressensamen zu 95 Proz. gekeimt, Wurzel bis 10 mm lang; Gerstenkörner zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 mm lang; Weizenkörner zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis 12 mm lang; Erbsen zu 85 Proz. gekeimt, Wurzel bis 6 mm lang; weiße Bohnen ungekeimt.

Nach 96 Stunden Hanfkörner zu 75 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm lang; Kressen zu 95 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm, obere Teile bis 2 cm lang; Gerste zu 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm, Keim bis 1 cm lang; Feuerbohne zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1½ cm lang; weiße Bohne noch nicht gekeimt; Erbsen zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2½ cm lang; Wicken zu 75 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Weizen zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm, Keim bis 3 cm lang, parallel gerichtet.

Anilin 0,05 Proz. Nach 96 Stunden: Kresse zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1½ cm lang; Hanf zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Gerste erst zu 10 Proz. gekeimt, diese wenigen Samen noch in den ersten Anfängen der Keimung; Feuerbohne zu 50 Proz. in den allerersten Keimungsstadien; weiße Bohne zu 75 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Erbsen zu 60 Proz. gekeimt, einige davon in Fäulnis, Wurzel bis 4 mm lang; Wicke zu 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis 8 mm lang; Weizen zeigte sich merkwürdig zurückgeblieben, es waren nur 10 Proz. schwach gekeimt.

Anilin 0,025 Proz. Nach 96 Stunden: Gerste und Weizen ebenfalls weit zurück hinter den andern, Gerste zu 10 Proz., Weizen zu 40 Proz. in den Keimungsanfängen; Wicken zu 80 Proz. in Keimung, Wurzel bis 2 cm lang; Erbsen zu 70 Proz. in Keimung, Wurzel bis 1½ cm lang; weiße Bohnen noch nicht gekeimt; Feuerbohnen zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 8 mm lang; Wicken zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 5 mm lang. Hanf und Kresse größtenteils gekeimt.

Anilin 0,01 Proz.: Nach 96 Stunden etwas Pilzgeruch beim Öffnen der Schale. Hier waren die weißen Bohnen zu 65 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang. Weizen hier zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Gerste auch nur zu 10 Proz. gekeimt; Hanf und Wicke größtenteils nahezu normal gekeimt (aber nicht ganz soweit gekeimt wie beim Kontrollversuch, siehe oben).

Anilin 0,005 Proz.: Nach 96 Stunden beim Öffnen der Schale Pilzgeruch. Auch hier die Gerste größtenteils ungekeimt, die wenigen keimenden in den ersten Anfängen. Auch sonst die Keimlinge noch etwas zurück gegen die des Kontrollversuches.

Bei der weiteren Entwicklung zeigte sich der Unterschied gegenüber dem Kontrollversuch am deutlichsten an den Weizenkeimlingen. Diese waren beim Kontrollversuch bis zum Deckel der Versuchsschale binnen 7 Tagen heraufgewachsen, so daß sich die Blätter teilweise durch Anstoßen gebogen hatten; Länge der oberirdischen Teile bis 11 cm. Bei 0,005 Proz. Anilin Keime nur bis 6 cm lang; bei 0,01 Proz. Anilin bis 3 cm; bei 0,025 Proz. Anilin Keime höchstens 1 cm hoch, meist nicht weiter entwickelt; bei 0,05 Proz. Anilin Weizenkeime nirgends hervorgetreten; bei 0,1 Proz. Anilin Weizenkeime gar nicht gewachsen.

Gerste war nach 7 Tagen beim Kontrollversuch ebenfalls bis 11 cm hoch geworden; bei 0,005 Proz. Anilin bis 5 cm; bei 0,01 Proz. Anilin Keime gar nicht entwickelt, desgleichen bei den stärkeren Lösungen.

Bei der Wicke war nach 7 Tagen die Wurzel im Kontrollversuch bis 2½ cm, der Stengel bis 1½ cm lang; bei 0,005 Proz. Anilin Wurzel bis 7 cm lang, Stengel höchstens 1 cm; bei 0,01 Proz. Anilin Wurzel bis 4 cm lang, Stengel eben hervortretend; bei 0,025 Proz. Anilin Wurzel bis 2 cm lang, Stengel eben hervortretend; bei 0,05 Proz. Anilin Stengel noch im Samen steckend, Wurzel bis 1 cm lang; bei 0,1 Proz. Anilin Keimung nirgends über das Hervortreten einer 1 mm langen Wurzel hinausgekommen. Die Wurzelbildung scheint also von 0,1 Proz. Anilin bis 0,025 Proz. gehemmt, von da bis 0,005 Proz. gefördert gegenüber dem Kontrollversuch.

An den Hanfkörnern war die Wurzel beim Kontrollversuch nach 7 Tagen bis 4 cm lang, der Stengel bis 2 cm; bei 0,005 Proz. Anilin Wurzel bis 3 cm, Stengel bis 1½ cm lang; bei 0,025 Proz. Anilin Wurzel bis 1½ cm lang, Stengel noch kaum gestreckt;

bei 0,05 Proz. Anilin Wurzel höchstens ein paar Millimeter lang, Stengel noch nicht gewachsen; bei 0,1 Proz. Anilin Keimung nirgends über den ersten Anfang hinausgekommen.

Die unverwüthliche Kresse wies aber sogar bei 0,1 Proz. Anilin einen kleinen Fortschritt in der Keimung nach 7 Tagen auf, bei einzelnen war die Wurzel inzwischen bis 6 mm Länge herangewachsen, der Stengel war unentwickelt. Beim Kontrollversuch freilich war die Wurzel bis 4 cm, der Stengel bis 5 cm lang geworden.

Die Feuerbohne zeigte beim Kontrollversuch nach 7 Tagen eine bis 5 cm lange Wurzel mit Anfängen zur Seitenwurzelbildung, der Stengel war noch nicht entfaltet; bei 0,005 Proz. Anilin Wurzel von geringerer Länge, ebenso bei 0,01 Proz. und 0,025 Proz. Anilin; bei 0,05 Proz. Wurzelwachstum ebenschwach beginnend; bei 0,1 Proz. gar kein Wachstum.

Ähnliche Verhältnisse wiesen nach 7 Tagen auch die Erbsen und die weißen Bohnen auf. Der Abstand vom Kontrollversuch zeigte sich sogar nach 9 Tagen nicht geringer, sondern eher noch größer.

Aus den eben beschriebenen Versuchen läßt sich schließen, daß das freie Anilin, $C_6H_5.NH_2$, für viele Keimlinge stark giftig ist, besonders für Weizen und Gerste. Bei Gerste zeigte sich eine schädliche Wirkung schon von 0,005 Proz. Anilin angefangen recht deutlich, bei den übrigen am Schluß auch gut bemerkbar. Das Anilin läßt sich also vergleichen mit dem Ammoniak, wo ebenfalls schon 0,01 Proz. eine deutliche Verlangsamung der Keimung bewirkte.

Tetraäthylammoniumhydroxyd: Es ist eine organische Base, welche dem Kalium- und Natriumhydroxyd ähnlich ist. Die starke alkalische Reaktion, die Fähigkeit, Fette zu verseifen und die Zerfließlichkeit an der Luft sind hier ebenso vorhanden wie bei den genannten allbekannten unorganischen Basen. Mit Säuren bildet es Ammoniumsalze, die gut krystallisieren. Durch Verdunsten der wässrigen Lösung im Vakuum kann die Base selbst im krystallisierten Zustande erhalten werden. Mein Präparat war schon am Zerfließen.

Kontrollversuch (mit reinem Wasser): Nach 72 Stunden waren von Kresse ca. 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Weizen 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm lang, Keim bis 1 cm; Gerste 20 Proz. gekeimt, Wurzel bis 5 mm lang; Hanf 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Wicke zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Erbse zu 65 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang.

Tetraäthylammoniumhydroxyd 0,05 Proz. Nach 72 Stunden: Kresse zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang, Keim bis 1 cm lang; Weizen zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3 cm lang; Gerste zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Hanf zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm lang; Wicke zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 mm lang; Erbse zu 65 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm lang.

Außerdem wurde nachgeprüft: 0,025 Proz., 0,01 Proz. und 0,005 Proz. Tetraäthylammoniumhydroxyd. Da aber schon 0,05 Proz. keine Schädigung der Keimlinge hervorbrachte, seien von den andern Konzentrationen die Wirkungen nicht einzeln aufgeführt. Erwähnt sei nur, daß diese geringeren Konzentrationen sogar größere Wurzellängen erzielten als reines Wasser. Es scheint eine Reizwirkung vorzuliegen.

Äthylamin, $C_2H_5.NH_2$, eine bewegliche Flüssigkeit vom spezifischen Gewicht 0,696 bei 8° , die bei 18° siedet. Mit Wasser mischt es sich in allen Verhältnissen. Es verdrängt Ammoniak aus seinen Salzen.

Kontrollversuch (mit reinem Wasser): Nach 65 Stunden bei Zimmertemperatur: Kresse zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang; Gerste zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 mm lang; Weizen zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang, Keim bis $\frac{1}{2}$ cm; Hanf zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; Wicke zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang.

Äthylamin 0,1 Proz.: Nach 65 Stunden bei Zimmertemperatur: Kresse zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis $\frac{1}{2}$ cm lang; Gerste zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 mm lang; Weizen zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel nur schwach sichtbar; Hanf zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 5 mm lang; Wicke zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel gerade hervortretend. Nach 8 Tagen zeigte sich bei den meisten Keimlingen eine Schädigung der Wurzel, das weitere Wachstum der Wurzel war meist unterdrückt.

Äthylamin 0,05 Proz.: Nach 65 Stunden bei Zimmertemperatur: Kresse zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm lang; Gerste zu 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis 5 mm lang; Weizen zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang, Keim

bis $\frac{1}{2}$ cm; H a n f zu 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis $\frac{1}{2}$ cm lang; W i c k e zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; E r b s e von dreien zwei gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm.

Äthylamin 0,025 Proz.: Nach 65 Stunden bei Zimmertemperatur: K r e s s e zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis $2\frac{1}{2}$ cm lang; G e r s t e zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 8 mm lang; W e i z e n zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang, Keim bis $\frac{1}{2}$ cm; H a n f zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; W i c k e zu 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis $\frac{1}{2}$ cm lang.

Äthylamin 0,01 Proz.: Nach 65 Stunden bei Zimmertemperatur: K r e s s e zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis $2\frac{1}{2}$ cm lang, Keim bis $\frac{3}{4}$ cm; G e r s t e zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 mm lang; W e i z e n zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm, Keim bis 1 cm lang; H a n f zu 40 Proz. gekeimt, Wurzel bis $\frac{3}{4}$ cm lang; W i c k e zu 40 Proz. eben im Anfangsstadium der Keimung; E r b s e n zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang.

Äthylamin 0,005 Proz.: Nach 65 Stunden bei Zimmertemperatur: K r e s s e zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 cm lang, Keim bis $\frac{1}{2}$ cm; G e r s t e zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 5 mm lang; W e i z e n zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang, Keim bis $\frac{1}{2}$ cm; H a n f zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; W i c k e zu 50 Proz. gekeimt, Wurzel bis 2 mm lang; von 4 E r b s e n hatten 3 gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang.

Aus den über Äthylamin angestellten Versuchen geht klar hervor, daß sogar 0,1 Proz. keine erhebliche Schädigung der Keimlinge hervorruft, es findet nur eine Verzögerung des Wachstums statt, keine Samenart bleibt ungekeimt. Durch 0,05 Proz. scheinen nur H a n f und W i c k e etwas in der Keimung verzögert zu werden, K r e s s e und G e r s t e, ferner W e i z e n scheinen gefördert; 0,025 Proz. ergab ähnliches Resultat wie 0,05 Proz.; 0,01 Proz. ebenso, desgleichen 0,005 Proz. Äthylamin.

Wie groß ist der Unterschied gegenüber dem A m m o n i a k! Bei letzterem genügt schon 0,01 Proz., um einen retardierenden Einfluß auszuüben.

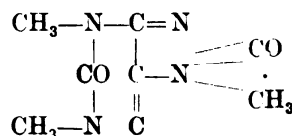
Diäthylamin (eine farblose Flüssigkeit von intensivem Geruch und der Formel $(C_2H_5)_2NH$). Auch diese Base erwies sich als wenig schädlich, wie folgende Versuche zeigen:

K o n t r o l l v e r s u c h (mit reinem Wasser): Nach 65 Stunden K r e s s e zu 100 Proz. gekeimt, Stengel bis 1 cm, Wurzel bis 3 cm lang; G e r s t e erst zu 20 Proz. gekeimt, Keimung in den ersten Anfangsstadien; W e i z e n zu 90 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 cm, Keim bis 3 cm lang; H a n f zu 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis 1 cm lang; W i c k e zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang.

0,1 Proz. Diäthylamin: Nach 65 Stunden K r e s s e zu 100 Proz. gekeimt, Wurzel bis 3, Stengel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang; G e r s t e zu 60 Proz. gekeimt, Wurzel bis 7 mm, Keim bis 2 mm lang; W e i z e n zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 cm, Keim bis 2 cm lang; W i c k e zu 70 Proz. gekeimt, Wurzel bis 4 mm lang; H a n f zu 80 Proz. gekeimt, Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang.

Das ist die stärkste hier angewendete Konzentration. Sie tut offenbar keinen Schaden. Also ist von den sonst noch angewendeten Lösungen 0,05, 0,025, 0,01, 0,005 Proz. ebenfalls keine Schädigung der Keimlinge zu erwarten. Faktisch war auch keine eingetreten, vielmehr konnte man bei einzelnen eine raschere Entwicklung erkennen (0,005 Proz.).

Zu den organischen Basen zählt auch das K a f f e e i n oder T r i m e t h y l x a n t h i n;



es finden sich in den Blättern und Bohnen des Kaffeebaumes ($\frac{1}{2}$ Proz.), im Tee (2—4 Proz.), im Paraguaytee von *Ilex paraguayensis*, in der Guarana einer aus Früchten von *Paulinia sorbilis* gewonnenen Masse (gegen 5

Proz.) und in den Kola-Nüssen (gegen 3 Proz.). In geringerer Menge findet sich Kaffein auch im Kakao. Es kristallisiert mit 1 Vol. Wasser in langen seidenglänzenden Nadeln, die in kaltem Wasser bis zu 1,3 Proz., in heißem Wasser viel leichter löslich sind.

Folgende Versuche wurden über Kaffeinwirkung angestellt:

Kontrollversuch mit reinem Wasser: Nach 72 Stunden Wurzeln bei Kresse bis 2½ cm, bei Weizen bis 2½ cm, Gerste bis 7 mm Hanf bis 1½ cm, Wicke bis 4 mm, Erbse bis 1 cm lang; bei Kresse und Weizen die oberirdischen Teile bereits bis 1 cm aufgerichtet.

Kaffein 0,5 Proz.: In dieser relativ starken Lösung (1,3 Proz. ist die Sättigungsgrenze bei gewöhnlicher Temperatur) zeigte sich eine deutliche Schädigung der Keimlinge. Nach 72 Stunden Wurzeln fast nirgends hervorgetreten, nur bei Hanf bis ½ cm lang.

Kaffein 0,1 Proz.: Nach 72 Stunden Wurzeln der Kresse bis 5 mm lang, meist viel kürzer, bei Weizen bis 3 mm lang, bei Gerste noch nicht hervorgetreten, bei Hanf bis 1 cm lang, Erbse bis ½ cm, Wicke bis 4 mm.

Kaffein 0,05 Proz.: Nach 72 Stunden Wurzel bei Kresse bis ¾ cm lang, bei Weizen bis 7 mm, bei Gerste bis 2 mm, Hanf bis 1½ cm, Wicke bis 1 cm.

Kaffein 0,02 Proz.: Nach 72 Stunden Wurzel bei Kresse bis 1 c, Weizen bis 1 cm, Gerste bis 2 mm, Hanf bis 1½ cm, Wicke bis 1½ cm.

Schon bei 0,1 Proz. hemmt also das Kaffein nur, erst bei 0,5 Proz. verhindert es die Keimung meistens.

Einige Versuche wurden auch mit Nikotin (salzsaurem) angestellt. Nikotin gilt als starkes Gift für höhere Tiere, ist aber für Pflanzen, wie es scheint, nicht erheblich schädlich.

Kontrollversuch (mit Wasser): Nach 96 Stunden Wurzeln der Kresse bis 8 cm lang, sehr dünn, Stengel bis 2½ cm; bei Weizen Wurzeln bis 5 cm, Keim bis 3 cm; bei Gerste meist noch nicht sichtbar; bei Wicke Wurzel bis ½ cm lang; bei Hanf ebenso.

Salzsaures Nikotin 0,1 Proz.: Dieser Versuch machte nach 96 Stunden einen fast günstigeren Eindruck als der Kontrollversuch. Die Wurzeln waren allerdings nicht ganz so lang geworden, dafür aber etwas kräftiger. Kresse, Wurzel bis 6 cm, Stengel bis 2 cm; Weizen, Wurzel bis 4 cm, Keim bis 2 cm etc. Von einer nachteiligen Wirkung konnte nichts beobachtet werden.

Ebensowenig waren natürlich auch die Versuche mit 0,05 Proz., 0,025 und 0,01 Proz. salzsaurem Nikotin zurückgeblieben. Bei 0,025 und 0,01 Proz. herrschte völlige Gleichheit mit dem Kontrollversuch, war also keinerlei Wirkung des Nikotins zu sehen.

Die Sache mit Nikotin ist nicht ohne Interesse für die Frage der Tabakrauchschädlichkeit bei Pflanzen. Dieselbe ist nach den Beobachtungen verschiedener Forscher sehr groß, so daß schon Spuren von Tabakrauch die Pflanzen ungünstig beeinflussen. Wie meine Versuche zeigen, kann dieselbe aber nicht auf das Nikotin geschoben werden, da Nikotin schon bei 0,1 Proz. nicht mehr schädlich sogar für junge Pflanzen ist. Auch das Kohlenoxyd, das von H. Molisch für die schädliche Wirkung des Rauches verantwortlich gemacht wird, kann es nicht sein, da die Untersuchungen verschiedener Forscher ergeben haben, daß dasselbe, wenn es auch für höhere Tiere sehr schädlich ist, doch bei niederen Tieren und Pflanzen kaum mehr ein Gift genannt werden kann. Es fehlt ja hier auch der Blutfarbstoff, der von dem Kohlenoxyd bei den höheren Tieren ergriffen wird zum Schaden des ganzen Organismus. Nach meinem Dafürhalten ist es das Ammoniak des Rauches, das jene schädliche Wirkung verursacht; denn dieses wirkt noch bei 0,01 Proz. nachteilig auf Pflanzen ein, wie oben gezeigt wurde.

Nachstehend soll eine Übersicht über die Schädlichkeit der von dem Verf. geprüften Stoffe gegeben werden (nur einige Hauptresultate sind angeführt, s. Tab. p. 596):

Die mit Ammoniak erhaltenen Keimungsergebnisse sind sehr merkwürdig. Warum wirkt Kalium- und Natriumhydroxyd nicht so schädlich? Sie sind ja starke Basen. Die basische Beschaffenheit des Stoffes ist also hier zweifellos nicht in erster Linie maßgebend. Woran liegt es sonst?

Angewandte Basen (Salze)	Kresse	Weizen	Gerste	Hanf	Wicken	Erbsen	Bohnen (Garten-)
A m m o n i a k 0,1 %	Keimung unterbleibt (höchstens erster Anfang tritt ein)	Keimung unterbleibt	Keimung unterbleibt	Keimung unterbleibt	Keimung unterbleibt	Keimung unterbleibt	Keimung unterbleibt
0,05 %	Keimung unterbleibt	dito	dito	dito	dito	dito	dito
0,025 %	Keimung unterbleibt	dito	dito	dito	dito	dito	dito
0,01 %	Keimung bleibt zurück hinter Kon- trollversuch	Keimung ist verlangsamt	Keimung tritt sehr schwach ein	Keimung bleibt zurück	Keimung bleibt zurück	Keimung bleibt zurück	Keimung bleibt zurück
A m m o n - s a l p e t e r 1 %	keimt sehr langsam zurück- bleibend gegen Kontrollvers.	keimt sehr langsam zurück gegen Kontrollvers.	keimt sehr langsam zurück gegen Kontrollvers.		zurück gegen Kontrollvers. zurück gegen Kontrollvers.		
0,25 %	wie bei 1 %						
A m m o n s u l f a t 1 %	Keimung verlangsamt Keimung verlangsamt, aber weniger wie bei 1 %		Keimung verlangsamt Keimung verlangsamt, aber weniger wie bei 1 %				
0,25 %							

Angewandte Basen (Salze)	Kresse	Weizen	Gerste	Hanf	Wicken	Erbsen	Bohnen (Garten-)
Ammoniakkarbonat 0,5 %	Keimung in ersten 4 Tagen stark verlangsam, später Stillstand	in 4 Tagen keine Keimung	in 4 Tagen keine Keimung	Keimung stark verzögert	in 4 Tagen keine Keimung	in 4 Tagen keine Keimung	in 4 Tagen keine Keimung
0,25 %	dito, später weiter keimend	dito	dito	dito	dito	in 4 Tagen schwache Keimung	
0,1 %	kaum verzögert	kaum verzögert	schwach verzögert	kaum verzögert	kaum verzögert	Keimung etwas verzögert	
0,05 %	nicht verzögert						
0,025 %	dito						
Natriumhydroxyd 0,1 %	Keimung kaum verzögert						
0,05 %	Keimung beschleunigt						
0,01 %	kein Unterschied gegenüber Kontrollvers.						
Kaliumhydroxyd 0,5 %	keine Keimung nach 40 St.	20 % keimen binnen 40 St. schwacher Fortschritt nach 64 St. Fortschritt nach 64 St.	keine Keimung	keimt zu 30 % binnen 40 St.	keimt nicht binnen 40 St.	keimt nicht binnen 40 St.	Feuerbohne keimt zu 50 % binnen 40 St. schreitet weiterhin etwas fort

Angewandte Basen (Salze)	Kresse	Weizen	Gerste	Haft	Wicke	Erbsen	Bohne (Garten-)
Kalium- hydroxyd 0,25 %	Keimung verzögert (gegen Kontrollversuch) aber fort- schreitend	Keimung erfolgt lang- samer, schreitet aber steigend fort u. wird voll- kommen	Keimung etwas zurück gegen Kontrollversuch, schreitet aber fort	Keimung bleibt gegen Kontrollvers. ein wenig zurück		Keimung bleibt etwas zurück gegen Kontroll- versuch	
0,1 %	Keimung nicht zurück gegen Kon- trollversuch, vielmehr etwas voran	Keimung nicht zurück- bleibend gegen Kon- trollversuch		Keimung kaum zurück- bleibend gegen Kon- trollversuch		Keimung nur ganz wenig zurück gegen Kontrollvers.	
Äthylamin 0,1 %	Keimung etwas ver- zögert gegen Kontrollvers.	Keimung verzögert	Keimung gleichem Schritt mit Kontrollvers. haltend	Keimung bleibt etwas zurück	Keimung bleibt zurück		
0,05 %	Keimung voran gegen Kontrollvers.	Keimung voran gegen Kontrollvers.	Keimung voran gegen Kontrollvers.	Keimung ein klein wenig zurück	Keimung voran gegen Kontrollvers.	keimt kräftig	
Diäthylamin 0,1 %	Keimung hält gleichen Schritt mit dem Kontroll- versuch	Keimung fast gleich mit dem Kon- trollversuch	Keimung voran gegen den Kontroll- versuch	Keimung etwas voran gegen den Kontrollvers.	Keimung etwas zurück gegen den Kontrollvers.		

Angewandte Basen (Salze)	Kresse	Weizen	Gerste	Hanf	Wicke	Erbse	Bohne (Garten-)
Tetraäthyl- ammonium- hydroxyd 0,05 %	Keimung nach 72 St. etwas voran gegen den Kontrollvers.	Keimung hält gleichen Schritt mit Kontrollvers.	Keimung voran gegen den Kontroll- versuch	Keimung gleichen Schritt hal- tend mit Kon- trollversuch	Keimung ein wenig zurück- bleibend	Keimung gleichen Schritt hal- tend, fast voran	
Anilin 0,1 %		nach 7 Tagen Weizenkeim- ling nicht gewachsen					
0,05 %	Keimung ganz wenig zurückbleibend gegen Kon- trollversuch	nach 7 Tagen Keimlinge weit zurück gegen Kon- trollversuch	Keimung stark zurück- bleibend				
0,025 %	Keimung nicht zurück	zurückbleibend					
0,01 %		Keimung nach 7 Tagen etwas zurück gegen Kon- trollversuch					
0,005 %		Keimung ein klein wenig zurück bleibend					

Angewandte Basen (Salze)	Kresse	Weizen	Gerste	Hanf	Wicke	Erbsen	Bohne (Garten-)
K a f f e i n 0,6 %	Deutliche Schädigung, Wurzeln nicht hervorgetreten nach 3 Tagen	nach 3 Tagen Wurzeln nicht hervorgetreten	nach 3 Tagen Wurzeln noch nicht da	Wurzel nach 3 Tagen bis ½ cm lang	nach 3 Tagen Wurzel nicht da	nach 3 Tagen Wurzel nicht da	
0,1 %	Keimung etwas gehemmt	Keimung etwas zurück- bleibend		Wurzeln nach 3 Tagen bis 1 cm lang, bei Kontroll- versuch bis 1 ½ cm	Wurzel kaum zurück (nach 3 Tagen) gegen Kontrollvers.		
0,05 %	Wurzel nach 3 Tagen bis ¾ cm lang (gegen 2 ½ cm beim Kontroll- versuch)						
0,02 %	Wurzel nach 3 Tagen bis 1 cm lang (gegen 2 ½ bei Kontrollvers.			nach 3 Tagen nicht zurück gegen Kontroll- versuche	nach 3 Tagen voran gegen Kontrollvers.		
N i k o t i n (salzsaures) 0,1 %	keine nach- teilige Wir- kung	keine nach- teilige Wir- kung	keine nach- teilige Wir- kung	keine nach- teilige Wir- kung	keine nach- teilige Wir- kung	keine nach- teilige Wir- kung	

Wir müssen zur Erklärung dessen wohl auf die zellphysiologischen Versuche zurückgreifen, die mit Ammoniak angestellt wurden.

Es gibt keine Protoplasmareaktion, die sich mit der des hochverdünnten Ammoniaks und einiger anderer Basen, wie des Kaffees, vergleichen läßt. Es ist die „Aggregation“. Sie tritt am lebenden Protoplasma ein, niemals am toten; darum unterbleibt sie mit konzentrierteren Lösungen. Solch verdünnte Lösungen wie 0.01 Ammoniak wirken zunächst kaum durch direkte chemische Verbindung. Denn dazu dringen doch zu geringe Mengen des Stoffes momentan ein. Trotzdem ergibt sich schon in kürzester Zeit eine sehr auffällige Reaktion. Unter dem Mikroskop bemerkt man, daß sich zahlreiche kleine Kügelchen aus dem Protoplasma ausscheiden; das Plasma wird davon trübe. Lösung 1: 20 000 wirkt ebenso, nur ein klein wenig langsamer. Lösung 1: 100 000 ruft die Körnchenbildung ebenfalls hervor, braucht aber etwas längere Zeit (etwa 5 Minuten). Läßt man Lösung 1: 100 000 $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf *Spirogyren* einwirken (damit sind auch die eben vorher erwähnten Reaktionen des Ammoniaks 1: 20 000 usw. angestellt worden), so findet man sämtliche *Spirogyren* abgetötet vor! Längere Einwirkung dieser hochverdünnten Lösung tötet also, vermutlich indem sich nun Ammoniak in größerer Menge an das Plasmaeiweiß anlagert.

In Lösung 1: 3000 sterben Fäden von *Spirogyra maxima* sogleich ab unter Verfärbung ins Fahlgrünliche, das Plasma zeigt dabei starke Körnchenbildung. Die Körnchenbildung ist dabei das primäre, sie tritt an dem noch lebenden Protoplasma ein, dann verbindet sich soviel Ammoniak mit dem Plasmaeiweiß, daß der Tod eintritt. Ebenso verhält es sich bei Einwirkung von 0,1 Proz. Ammoniak. Erheblich konzentriertere Ammoniaklösungen bewirken keine Granulation; sie töten, bevor die Granulation (Proteosomenbildung) eintreten kann.

Auch kohlen-saures Ammoniak bewirkt die Körnchenausscheidung, dieses aber schon in konzentrierten, wie z. B. 1-proz., Lösungen. Es verursacht eben kein so rasches Absterben.

Diese chemisch-physiologischen Resultate mit Ammoniak und kohlen-saurem Ammoniak lassen sich mit den Beobachtungen an Keimpflanzen in Einklang bringen. Auch hier wirkt schon 0,01 Proz. Ammoniak schädlich, während Ammonkarbonat kaum mehr bei 0,1 Proz. Schaden tut.

Ebenso zeigt sich schon einige Übereinstimmung bezüglich der Wirkung des Kali auf Algen, Infusorien, Amöben usw. und der auf Keimlinge. Kali wirkt schon bei 0,1 Proz. kaum mehr schädlich auf die Keimung ein. Bei genannten Mikroorganismen zeigt sich 0,1 Proz. als die Grenzkonzentration der Schädlichkeit, größere Verdünnungen sind unschädlich, 0,1 Proz. selbst ist oft unschädlich.

In 0,1 Proz. Kali hört z. B. die Bewegung der Schwärmer und Infusorien auf, Anguillulen und Sistomen setzen aber ihre Bewegungen fort. *Spirogyren* sterben binnen 24 Stunden ab. Typhus- und Cholerabazillen aber wachsen nach *Kitosato* auf Nährgelatine, die mit 0,1 bis 0,14 Proz. KOH versetzt ist.

Bezüglich der fixen Alkalien läßt sich sagen, daß ihre Reaktionsfähigkeit gegen das Plasmaeiweiß nicht sehr groß ist; jedenfalls weit geringer wie die des Ammoniaks. Die aufquellende Wirkung, welche freie Alkalien auf das Plasma bekanntlich haben, tritt erst bei höheren Konzentrationen ein und zwar, nachdem zuvor längst der Tod durch das Alkali herbeigeführt wurde.

Keimlinge werden, wie oben ausgeführt wurde, durch 0,5 Proz. Kalium-

hydroxyd meist an der Keimung verhindert; 0,25 Proz. verzögert die Keimung, 0,1 Proz. bewirkt keine oder fast keine Verzögerung.

Besonders merkwürdig ist die Einwirkung von Kaffein auf manche *Wicken* organismen:

Kaffein und *Paramecium*. Läßt man 0,1 proz. Kaffeinlösung auf das Infusorium *Paramecium* einwirken, so dauert zunächst die Wimperbewegung und freie Ortsbewegung unverändert fort, während die kontraktilen Vakuolen sich vergrößern und allmählich ihre Kontraktionsfähigkeit verlieren. Aus der Vakuolen-Vergrößerung scheint hervorzugehen, daß das lebende Plasma Wasser in den Vakuolenraum hinein ausscheidet; indem das Plasma hiemit dichter d. h. wasserärmer wird, nimmt es ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen an. Zugleich bewirkt die 0,1 proz. Kaffeinlösung offenbar eine Lähmung der Vakuolenwand, so daß sie sich nicht mehr kontrahieren kann. Im Übrigen scheint das Infusorium nicht beeinträchtigt zu werden. Es setzt seine Bewegungen tagelang in der Kaffeinlösung unbehindert fort. In manchen findet sich schließlich statt der zwei Vakuolen eine einzige sehr große vor; zugleich nimmt der Infusorienleib dabei oft runde (kugelige) Gestalt an; die charakteristische Form des *Paramecium* ist damit aufgegeben. Das Plasma bildet dann eine ziemlich dünne Hülle um die große Vakuole, so daß die noch immer lebhaft bewegliche Zelle ein ganz verändertes Aussehen, fast das einer Pflanzenzelle (peripherischer Plasmasack eine einzige große Vakuole umschließend) erhält.

Kaffein und Amöben. Läßt man 0,1 proz. wässrige Kaffein-Lösung auf Amöben einwirken, so stellt sich bald heraus, daß dieselbe gut ertragen wird; die Ortsbewegung und strömende Bewegung im Innern dauert fort, auch bei tagelanger Einwirkung der Lösung; gleichzeitig anwesende sonstige niedere Tiere wie Infusorien ferner niedere Pflanzen Schwärmsporen von Algen etc. nehmen ebenfalls keinen merklichen Schaden.

Sehr bald zeigt sich aber an der *lebenden* Amöbe eine auffallende Veränderung, indem dieselbe sich nun schärfer von dem umgebenden Wasser abhebt; zahlreiche große Vakuolen treten im Innern auf, welche durch starklichtbrechendes Plasma getrennt sind; die Fortsätze werden länger und dünner, die Bewegung ist langsamer und macht den Eindruck, als ob die sich bewegende Masse nicht mehr jenen Grad von Dünnsflüssigkeit hätte wie zuvor. All das deutet darauf hin, daß das Plasma in einen dichteren Zustand übergegangen ist, und gerade darin liegt die Übereinstimmung mit den früher an Pflanzenzellen gemachten Beobachtungen. Die Vakuolen sind offenbar durch Wasserausscheidung aus dem Plasma zustande gekommen, das stärkere Lichtbrechungsvermögen ist Folge des größeren Substanzreichtums im Plasma; der Grund der Dichtigkeitszunahme ist wahrscheinlich in einer Polymerisation des aktiven Albumins zu suchen.

Wenn man die Kaffein-Lösung bald durch reines Wasser ersetzt, kann damit der frühere Zustand der Amöbe wiederhergestellt werden.

Schleimpilze und Kaffein: Ein (Kapillitium bildender) Myxomycet wurde mit 0,1 proz. Kaffeinlösung behandelt. Sein Plasmodium zerfiel unter starker Protoplasmaströmung in mehrere verschieden große runde Portionen, welche, wie aus der Spannung der Hautschicht und der strömenden Bewegung im Innern hervorging, noch längere Zeit fortlebten; in vielen dieser Kugeln ging allmählich eine Sonderung in stark lichtbrechendes, offenbar ziemlich dichtes, zu einem schwammartigen Gerüst verbundenes Plasma und Vakuolenflüssigkeit vor sich. Durch Salpeterlösung von 10 Proz. wurden ähnliche Vorgänge angeregt, schienen aber bald stille zu stehen, indem das Plasma abstarb. Ließ man das Plasmodium nur kurze Zeit in 0,1 proz. Kaffeinlösung liegen, bis die Ballung eingetreten war, und brachte man es dann in Wasser zurück, so konnte man nach 24 Stunden bereits wieder Bildung langer Plasmodienstränge bemerken. Sämtliche Versuche wurden mit offenem Objektträger ohne Deckgläschen gemacht (natürlich unter Vermeidung des Eintrocknens).

Leukocyten und Kaffein: F. Winkler, dessen Arbeit „Darstellung von Granulationen in Leukocyten“ (Fol. haematologica Bd. 9. 1910) mir erst nachträglich zukam, schreibt: Unter der Einwirkung einer $\frac{1}{2}$ proz. wässrigen Kaffeinlösung treten in Leukocyten (von gonorrhöischem Eiter) sehr feine Körnchen auf, welche den ganzen Plasmaleib erfüllen; mit 0,02 Proz. Ammonkarbonat ebenfalls. Getötete Leukocyten lassen die Ausscheidungen nicht erkennen. Leider konnte ich diesen interessanten Fall noch nicht vergleichen.

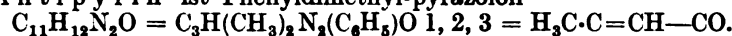
Man ersieht aus den eben angeführten Beispielen, wie das Kaffein an verschiedenen Mikroorganismen Lebensreaktionen hervorzurufen vermag, wobei die Zellen fortleben. Infolge der eintretenden Reaktion (Aggregation)

hören natürlich die Wachstumsvorgänge auf. Sie können wieder eintreten, sobald das Kaffein ausgewaschen wird.

Um die Wirkung des Kaffeins mit der des Antipyrins zu vergleichen, wurde eine kleine Portion Infusorien (aus einer Spirogyren-Kultur entnommen) in a) Kaffein 0,1 Proz. b) Antipyrin 0,1 Proz. gebracht und darin — auf dem Objektträger mit aufgesetztem Deckglas — mehrere Tage belassen. Dabei trocknete, trotz Aufstellung in einer feuchten Kammer, die Flüssigkeit allmählich auf die Hälfte der ursprünglichen Menge ein. In Kaffein war bald eine Veränderung der Infusorien zu bemerken, sie machten nur noch ruckweise oder auch um ihren Mittelpunkt drehende Bewegungen, nach 5 Tagen waren sie ganz abgestorben und somit bewegungslos. Hingegen zeigten die Antipyrin-Infusorien am fünften Tage noch lebhaft Bewegung und überhaupt unveränderte Beschaffenheit. Erst als ich nun durch Liegen des Präparates an der Luft die Flüssigkeit noch weiter bis auf einen kleinen Rest eintrocknen ließ, gerieten die Infusorien in zuckende Bewegungen und starben schließlich ab. Die noch beigemischten Spirogyra-Fäden hatten bei Kaffein und Antipyrin reichlich Proteosomen-Ausscheidung im Zellsafte ergeben; die Kaffein-Fäden waren nach 4 Tagen abgestorben, die Antipyrin-Fäden am 5. Tage noch lebend.

Mit 1 Proz. Antipyrin aber stellten sämtliche Infusorien ihre Bewegungen sehr bald ein; nur an wenigen Individuen waren nach 5 Minuten noch zuckende Bewegungen sichtbar.

Das Antipyrin ist Phenylmethyl-pyrazolon



Es ist eine starke einsäurige Base. Ihm kommt also eine ganz andere Molekülbeschaffenheit zu als dem Kaffein, welches zu den Karboniden in der Fettreihe gehört und in die Reihe der Harnsäure zu stellen ist. Das Kaffein ist offenbar schädlicher als das Antipyrin. Auf die beigemischten Algen (Spirogyra und Vaucheria) übte das letztere selbst bei der Konzentration von 1 Proz. keine augenblicklich schädigende Wirkung. Die Fäden waren nach 5 Minuten noch turgeszent. In den Spirogyra-Fäden war der schon erwähnte Proteosomen-Niederschlag entstanden, die Fäden hatten dadurch eine dunkle undurchsichtige Beschaffenheit angenommen.

Ein Versuch mit wesentlich größeren Infusorien (Paramaecien) (die vorhin erwähnten waren kleinere Infusorienarten) ergab, daß 1 Proz. Antipyrin an diesen Tieren dieselben hochinteressanten Veränderungen hervorbringt, wie sie oben bei 0,1 — 0,01 Proz. Kaffein beschrieben wurden. Die Infusorienleiber werden häufig kugelig und dabei schaumig, wie von zahlreichen kleinen Vakuolen erfüllt; manchmal werden auch nur die schon vorhandenen Vakuolen größer, das Plasma entsprechend dichter und stärker lichtbrechend. In einigen Fällen sah ich auch, daß der Inhalt des Infusoriums in viele kleine Kugeln geballt war, welche zur Leibesöffnung hervordrangen. Die vorhin erwähnten schaumigen Kugeln drehten sich nach 2 stündiger Einwirkung der Lösung vielfach noch im Kreise oder um ihren Mittelpunkt; eine willkürliche nach einer bestimmten Richtung gehende rasche Bewegung war nicht mehr vorhanden.

Bei einem gleichzeitig aufgestellten Kaffein-Versuch mit 0,1 Proz. Kaffein waren die Paramaecien nach 2 Stunden größtenteils bewegungslos; nur wenige zeigten die oben geschilderten Übergangsstadien vom normalen Zustande zum toten.

Die oben angeführten Keimversuche mit Kaffeinhaltigem Keimwasser zeigen, daß auch hier schon mit 0,02 und 0,05 Proz. eine Einwirkung auf die Keime statthat, indem eine Hemmung des Wurzelwachstums bemerkbar wird. Kaffein von 0,5 Proz. aber verhindert die Keimung mancher Samen.

Daß auch in weiteren Entwicklungsstadien noch deutliche Hemmung des Wachstums stattfindet, konnte ich bei einem jüngst in der biochem. Zeitschr. Bd. 36. Heft 2, 3, 4 beschriebenen Versuch wahrnehmen.

Erbsenkeimlinge in 0,5 Proz. Methylalkohol + 0,1 Proz. Kaffein + 0,1 Proz. mineralischem Nährsalz.

Da das Kaffein in der Verdünnung 0,1 Proz. und 0,01 Proz. auf manche Organismen merkwürdige Wirkungen ausübt, so versuchte ich einen Zusatz von 0,1 Proz. Kaffein zur Nährlösung. Es entwickelte sich binnen 14 Tagen eine ungewöhnlich dicke Hauptwurzel mit zahlreichen Verzweigungsanfängen; die gesamte Wurzellänge übertraf aber nicht eine Ausdehnung von etwa 5 cm. Ebenso waren die oberirdischen Teile verkürzt und zur Verzweigung neigend; der Hauptstamm war $3\frac{1}{2}$ cm lang und $3\frac{1}{2}$ mm dick, ein Seitenzweig $1\frac{1}{2}$ cm lang und $2\frac{1}{2}$ mm dick.

Nach weiteren 14 Tagen zeigte die Versuchspflanze eine Hauptwurzel von 6 cm Länge und 12 kurze Seitenwurzeln, von denen die längste nur 1 cm lang war; gesamtes Wurzelsystem also kaum 12 cm überschreitend. Immerhin zeigte sich somit ein Fortschritt in der Wurzelbildung, trotzdem auch etwas Verpilzung an den Wurzeln sichtbar war. Am Stengel war der Hauptzweig 7 cm lang und $3\frac{1}{2}$ mm dick, der Seitenzweig $2\frac{1}{2}$ cm lang und $2\frac{1}{2}$ mm dick. Auch hier war somit ein Fortschritt zu bemerken. Die Blätter waren noch klein und angedrückt, aber sonst normal.

Gegenüber allen sonstigen Wasserkulturen der Erbse zeichnete sich dieser Versuch durch das geringe Wachstum der Teile aus, ferner durch die bald eintretende und fortschreitende Verzweigung. Man kann also wohl sagen, daß durch das Kaffein das Wachstum verlangsamt, die Verzweigung begünstigt wird.

Antipyrin wirkt ähnlich wie Kaffein auf Keimpflanzen. Es tötet bei 0,5 Proz. die Pflanze ab.

Phaseolus multiflorus nach 14 tägiger Keimung auf feuchtem Fließpapier in Nährlösung von 0,1 Proz. Mineralsubstanz und 0,5 Proz. Antipyrin gebracht. Nach 14 Tagen waren etwa 35 ccm Nährlösung verbraucht; die Pflanze zeigte sich nun abgestorben, schlaff herunterhängend, verfärbt; die Größe derselben war natürlich gering, da in der dem Absterben vorausgehenden Zeit die Organe schon krankhaft verändert waren. Die Wurzeln arbeiteten schlecht, nach Beendigung des Versuchs (14 Tage nach Einsetzung des Keimlings in die antipyrinhaltige Nährlösung) waren alle Wurzeln schlaff. Pilze waren aber in der Flüssigkeit nicht aufgetreten. Die Kotyledonen waren am Schluß eingeschrumpft und trocken, sie erwiesen sich unter dem Mikroskop als angefüllt mit Reservennährstoffen.

Nikotin (salzsaures) wirkt, wie oben angeführt, in 0,1 Proz. Lösung nicht schädlich auf Keimlinge. Ebenso ist 0,1 Proz. salzsaures Nikotin für Mikroorganismen nicht schädlich.

Durch salzsaures Nikotin von 0,1 Proz. (die Lösung reagierte schwach sauer) wurden kleine Wassertiere, Insektenlarven, Spulwürmer, eine kleine Infusorienart binnen 60 Stunden nicht abgetötet; sie bewegten sich noch lebhaft hin und her. Die Kladophorafäden waren unter Verfärbung abgestorben, von *Vaucheria* waren nur wenige Schläuche noch lebendig. Bei 24 stündigem Aufenthalt in 0,01 proz. Lösung behielten Infusorien und Diatomeen ihre Bewegung unverändert bei; Kladophoren und *Vaucherien* blieben zum großen Teil lebendig.

Aminbasen: Diese Stoffe bewirken bei *Spirogyren* die Granulation des aktiven Albumins in ebenso ausgezeichneter Weise wie das Ammoniak selbst, und zwar ebensowohl als freie Basen wie in Salz-Verbindungen — ganz wie bei Ammoniak.

Läßt man 0,1 Proz. Lösung von salzsaurem Monoäthylamin auf kräftig vegetierende Fäden von *Spirogyra maxima* einwirken, so zeigt sich erst nach längerer Zeit (wahrscheinlich weil das Salz von dem Protoplasma erst gespalten werden muß) eine sichtbare Veränderung. Nach zweistündigem Aufenthalt in der Lösung zeigte sich bei meinen Versuchen noch nichts auffälliges, nach 5 Stunden aber war die Granulation in den lebenden Zellen bereits eingetreten.

Auf Keimlinge wirkt 0,1 Proz. Äthylamin meist etwas verzögernd, schon 0,05 Proz. aber äußert keine schädliche Wirkung mehr.

Diäthylamin wirkt bei 0,1 Proz. nicht schädlich auf Keimlinge ein.

Tetraäthylammoniumhydroxyd ist bei 0,1 Proz. für Keimlinge nicht schädlich.

Anilin, $C_6H_5.NH_2$, ist nur in mäßigem Grade schädlich für niedere Pflanzen und Tiere. Denn in einer 0,1 proz. Lösung, welche hergestellt wurde durch Lösen von 0,5 g Anilin in Alkohol und langsames Eingießen dieser Lösung in 500 ccm Wasser unter fleißigem Umrühren, starben Algen und Infusorien binnen 6 Stunden nicht ab. Sogar nach 48 Stunden waren noch viele Konferven und *Vaucherien* lebendig, andere waren abgestorben, die Tiere erschienen insgesamt leblos. Die Auflösung reagierte ganz schwach alkalisch, so daß empfindliches Lakmuspapier kaum merklich damit reagierte. Ein direkter Vergleich mit Benzol, C_6H_6 , aus welchem sich Anilin durch Eintritt von NH_2 statt einem H ableitet, ist hier nur möglich, wenn das Anilin in der Verdünnung 0,02 Proz. angewendet wird; denn Benzol läßt sich nicht gut

in stärkerem Prozentzusatz lösen. Der Vergleich der 0,02 proz. Lösungen ergab, daß Benzol etwas schädlicher ist als Anilin.

Auf Keimlinge wirkt 0,1 Proz. Anilin schädlich ein, es hindert die Keimung; auch 0,05 Proz. wirkt meist noch hemmend auf den Keimungsvorgang ein; hindert ihn aber nicht; sogar bei 0,025 Proz. bleibt die Keimung des Weizens zurück gegen den Kontrollversuch, die der Kresse nicht mehr.

Übereinstimmend kann also hier festgestellt werden, daß 0,1 Proz. Anilin niedere Tiere und manche Algen bei längerer Einwirkung ebenso abtötet wie Keimpflanzen.

Unter allen Basen, die bis jetzt geprüft wurden, wirkt das Ammoniak bei den größten Verdünnungen auf Pflanzen ein, seien es Keimlinge oder Algen; auch niedere Tiere werden von Ammoniak noch bei größter Verdünnung beeinflusst. Das Plasmaeiweiß (aktive Albumin) besitzt also eine besonders große Reaktionsfähigkeit gegen Ammoniak.

Das gibt wohl zu denken und dürfte zur Aufklärung mancher ernährungsphysiologischer und landwirtschaftlicher Rätsel dienen.

Nachdruck verboten.

Die Verwendung des Plateschen alkoholometrischen Meßbesteckes auf dem Mikroskopiertisch.

Von Dr. Max Wolff, Bromberg-Schröttersdorf.

Mit 2 Figuren im Text.

Nach Angaben von Prof. Plate-Jena wird neuerdings vom glas-technischen Institut E. Koellner-Jena ein sehr praktisches alkoholometrisches Meßbesteck hergestellt, das infolge seiner äußerst kompensiösen Form — Fig. 1 stellt das Besteck in $\frac{2}{3}$ nat. Größe, Fig. 2 eines der

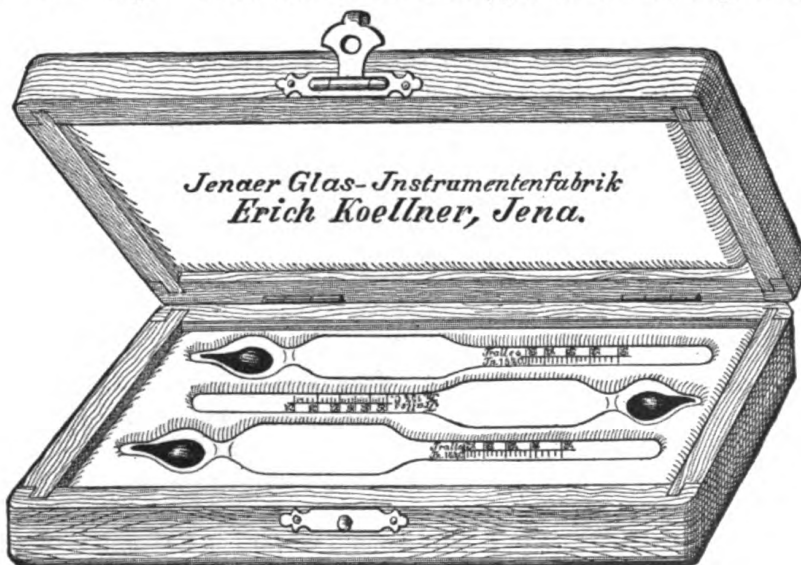


Fig. 1.

der drei Tralles'schen Skalenaraeometer in nat. Größe dar — eine empfindliche Lücke des für mikroskopische Arbeiten erforderlichen Instrumentariums ausfüllt.

Es ist in jedem Laboratorium eine wahre Kalamität, daß die zum Kon-

servieren und zum Entwässern von Präparaten verwendeten im einzelnen meist kleineren Alkoholmengen nicht oder nur in beschränktem Maße weitere Verwendung finden. Im besten Falle wird der gesammelte gebrauchte Alkohol in Sammelgefäße geschüttet und dann zu Zwecken verwendet, für die er in Anbetracht seines hohen Preises eigentlich zu schade ist.

Das betrifft nun heute gerade diejenigen Institute, die nicht so vorwiegend Lehr-, in erster Linie vielmehr Forschungsanstalten sind, deshalb aber nach den jetzt geltenden Bestimmungen nicht mehr un versteuerten Alkohol verbrauchen dürfen.

Ein erheblicher Teil des Leserkreises dieses Centralblattes, der an solchen Forschungsanstalten tätig ist, hat also gewiß großes Interesse daran, kleine Alkoholmengen so aufzubewahren, daß sie speziell für die angedeuteten Arbeiten weiter Verwendung finden können. Letzteres ist nur möglich, wenn man den Alkoholgehalt sicher und schnell, d. h. ohne Wägung und Rechnung, genau bestimmen kann. Und diese Forderung erfüllt der genannte kleine Apparat in so ausgezeichnete Weise, daß ich an dieser Stelle kurz auf ihn aufmerksam machen möchte.

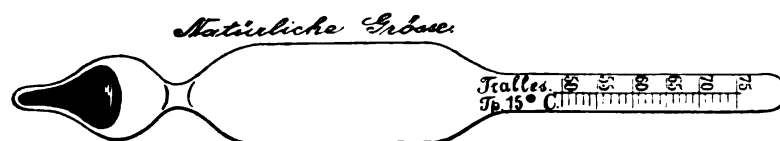


Fig. 2.

Praktisch kommt für histologische und bakteriologische Arbeiten, die hier in erster Linie interessieren, die Bestimmung von 30—100-proz. Alkoholen in Betracht, die mittels des neuen Apparats mit einer Genauigkeit von ganzen Volumenprozenten ausführbar sind.

Wie aus den Figuren ersichtlich, ist der Meßbereich eines dieser Anforderung genügenden Tralles'schen Prozentaraeometers auf 3 Instrumente verteilt worden, von denen eins für Alkohole von 30—50 Proz., eins für solche von 50—75 Proz. und eins für 75—100 Proz. bestimmt ist.

Mit den infolgedessen sehr klein gehaltenen Araeometern lassen sich natürlich entsprechend kleine Alkoholmengen noch zur Bestimmung des Alkoholgehaltes verwenden. Verwendet man z. B., wie ich es tue, einen kleinen 10 ccm-Meßzylinder von 18 mm Durchmesser im Lichten und 8,5 cm Höhe als Araeometergefäß, so genügen für alle Messungen 13 ccm Flüssigkeit!

Es erübrigt sich danach, noch näheres über die praktische Verwendung des Instrumentes auszuführen.

Daß es sich — zu dem Zweck ist es zunächst konstruiert worden — trefflich eignet, um in den Sammlungsgläsern jeder Größe schnell (besonders wenn nachzufüllen ist, ist das wichtig) den Alkoholgehalt der Konservierungsflüssigkeit zu bestimmen, ist selbstverständlich.

Das neue Alkoholometer ist, wie alle Produkte der bekannten Jenenser Werkstätte, ein Präzisionsinstrument ersten Ranges und wird sich, da es empfindliche Ausgaben sparen hilft und zu dem sehr mäßigen Preise von 10 M. erhältlich ist, in allen Laboratorien schnell als ein unentbehrlicher Teil des Instrumentars einbürgern.

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,
Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Allemann, O.**, und **J. Kürsteiner**, Die Ursache einer schwärzlichen Mißfärbung des Emmmentalerkäsesteiges. (Molkerei-Ztg. [Berlin]. 1911. No. 48. p. 566—568. — Dass. nach Schweizer. Milchztg. 1911. No. 60 ff.)
- Appel, Otto**, und **Otto Schlumberger**, Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten. (VIII. 102 p. m. 3 farb. Karten. 1911. 5. — *M.* — Berlin, P. Parey (Arb. d. D. L.-G. Heft 190.)
- Arzberger, E. G.**, The fungous root tubercles of *Ceanothus americanus*, *Elaeagnus argentea* and *Myrica cerifera*. (Ann. Rep. Missouri Bot. Gard. 21. 1910. p. 60—102. 9 Taf.)
- Blister-canker** or apple tree. (*Nummularia discreta* Tul.) (Journ. of the board of agric. Vol. 18. 1911. No. 4. p. 314—315. 1 Taf.)
- de Castella, F.**, Practical hints on cut worm destruction. (Journ. of agric. Victoria. Vol. 1911. Part. 7. p. 458—461.)
- , Vine disease in France. (Journ. of agric. of Victoria. Vol. 9. 1911. Part. 9. p. 651—652. — Part. 7. p. 462—468; m. Fig.)
- Davey, H. W.**, The root borer and its parasite. (Journ. of agric. Victoria. Vol. 9. 1911. Part. 7. p. 451—455.)
- Evans, J. B. Pole**, Black scab or warty disease of the potato. (Agric. Journ. of South Africa. Vol. 2. 1911. No. 3. p. 338—341. 2 Fig.)
- Faes, H.**, Nouvelles recherches sur le développement et le traitement du Mildiou. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 934. p. 517—524. 4 Fig.)
- French, C., jun.**, Insects destructive to crops. (Journ. of agric. of Victoria. Vol. 9. 1911. Part. 7. p. 455—458. 1 Taf.)
- Froggatt, Walter W.**, A new pest of salt-bush. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. 22. 1911. Part. 9. p. 757—758. 6 Fig.)
- Garrad, G. H.**, Tobacco growing for insecticidal purpose. (Journ. board of agric. Vol. 18. 1911. No. 5. p. 378—384.)
- Hegy, Desiderius**, Zur Feststellung des durch Steinbrand (*Ustilago*) beim Weizen verursachten Schadens. (Deutsche landw. Presse. 1911. No. 94. p. 1069.)
- Hiltner, L.**, und **G. Ihssen**, Über das schlechte Auflaufen und die Auswinterung des Getreides infolge Befalls des Saatgutes durch *Fusarium*. (Schluß.) (Mitt. d. K. Agrikulturbotanischen Anstalt. 1911. No. 2.) (Landw. Jahrb. f. Bayern. 1911. Jg. 1. No. 4. p. 315—362.)
- Klatt, Berthold**, Die wichtigsten Insektenschädigungen am Getreide während der letzten Jahre. (Arbeiten d. landw.-Kam. f. d. Prov. Brandenburg. 1911. Heft 3. p. 57—65.)
- Linsbauer, L.**, Der Hexenbesen und die Knospensucht des Flieders. (Flugblätter d. k. k. Gartenbaugesellschaft in Wien. 1911. No. 2.)
- Molisch, Hans**, Das Erfrieren der Pflanzen. (36 p. m. 7 Abbildgn.) Vorträge d. Verein z. Verbreitung naturwissensch. Kenntnisse in Wien. (Aus: Schriften d. Vereins. 51. Jg. 8. Wien [W. Braumüller]. 1911. Heft 6. No. 1.)
- Morstatt, H.**, Nashornkäfer und Herzfäule an Kokospalmen. (Mit 1 Taf. u. 9 Abbildgn.) (Der Pflanze. 1911. No. J. p. 521—531.)
- , Saatgut- und Vorratsschädlinge und Saatgutdesinfektion. (Mit Taf. 9 u. 10.) (Der Pflanze. 1911. No. 10. p. 576—604.)
- Müller, C. A.**, Was ist bei Ausführung der Kulturarbeiten zu beachten, um dem Umsichgreifen der Rebenkrankheiten möglichst vorzubeugen und die Bekämpfung derselben zu erleichtern? (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. 23. 1911. No. 11. p. 233—237.)
- , Was ist bei Ausführung der Kulturarbeiten zu beachten, um dem Umsichgreifen der Rebenkrankheiten möglichst vorzubeugen und die Bekämpfung derselben zu erleichtern? (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. 23. 1911. No. 11; No. 12. p. 253—257.)
- Quinn, Geo.**, Peach leaf curl fungus. (Journ. of agric. South Australia. Vol. 15. 1911. No. 1. p. 58—66. 4 Fig.)

- Sorauer, P.**, Die mikroskopische Analyse rauchbeschädigter Pflanzen. (158 p. m. 1 Taf.) 1911. 2,80 M. — Berlin, Paul Parey. (Sammlung v. Abhandlungen üb. Abgase und Rauchschäden. Heft 7.)
- Spaulding, P.**, The timber rot caused by *Lenzites sepiaria*. Washington (Bull. Dep. Agg.) 1911. 46 p. 8°. 4 Taf. u. 3 Fig. 2,50 M.
- Zimmermann, H.**, Über den Einfluß der diesjährigen Witterung auf die Ausbildung der Kartoffelknollen. (Mit Abbildgn.) (Deutsche ldw. Presse. 1911. No. 84. p. 964.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Pflanzenschutz.

- Bornemann, Fel.**, Unkrautbekämpfung. (Arb. d. Landw.-Kam. f. d. Prov. Brandenburg. 1911. Heft 3. p. 65—77.)
- Broz, Otto**, Die Feldmäuseplage und ihre Bekämpfung. (Wiener landw. Ztg. 1911. No. 90. p. 1005—1007.)
- Jouanet, F.**, Espériences contre la *Cochylis*. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 93 b. p. 587—588.)
- Krüger, Friedr.**, Neuere Erfahrungen bei der Bekämpfung einiger für den Landwirt besonders wichtiger pilziger Schädlinge. (Arb. d. Landw.-Kam. f. d. Prov. Brandenburg. 1911. Heft 3. p. 112—116.)
- Labergerie**, Destruction de la *Cochylis*, de l'Eudémis et de la Pyrale. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 937. p. 612—614.)
- Schwangart**, Ein neuer Feind des Heu- und Sauerwurms. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. 23. 1911. No. 12. p. 257—259.)
- , Neuere Erfahrungen mit der Bekämpfung der Traubenwickler. Neustadt a. H. Meininger 1911. 29 p. 8°. 1,50 M.
- Störmer, K.**, unter Mitwirkung von A. Richinger, Fr. Marshall, O. Morgenthaler und R. Kleine. Die Bekämpfung des Gersten- und Weizenflugbrandes. (Deutsche ldw. Presse. 1911. No. 88. p. 1005; No. 89. p. 1017.)
- Tachon**, La défense contre la grêle par le paratonnerre paragrèle. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 937. p. 603—604.)
- , La défense contre la grêle par le paratonnerre paragrèle. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 938. p. 634—638.)
- Turrel, A.**, Expériences sur le traitement du mildiou. (Rev. de viticult. Année 18. 1911. No. 935. p. 560—561.)
- Weigelin, Gustav**, Gegen die Reblaus und andere Rebenfeinde. Stuttgart (Enderlen) 1911. 41 p. 8°.

Inhalt.

Original-Abhandlungen.

- Arens, Federico**, *Loranthus sphaerocarpus* auf *Dracaena spec.*, p. 564.
- Baudisch, Oskar**, Über Nitrat- und Nitrit-assimilation und über eine neue Hypothese der Bildung von Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen, p. 520.
- Bokorny, Th.**, Einwirkung einiger basischer Stoffe auf Keimpflanzen, Vergleich mit der Wirkung auf Mikroorganismen, p. 587.
- Istvánffy, Gy. von und Pálkás, Gy.**, Infektionsversuche mit *Peronospora*, p. 551.

- Osterwalder, A.**, Über die Bildung flüchtiger Säure durch die Hefe nach der Gärung bei Luftzutritt, p. 481.
- Sewerin, S. A.**, Die Mobilisierung der Phosphorsäure des Bodens unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit der Bakterien, p. 498.
- Voges, Ernst**, Zum Parasitismus von *Nectria* und *Fusicladium*, p. 540.
- Wolff, Max**, Die Verwendung des Plate-schen alkoholometrischen Meßbesteckes auf dem Mikroskopiertsch, p. 605.

Neue Literatur, p. 607.

Abgeschlossen am 25. Januar 1912.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 32. No. 26.

Ausgegeben am 23. März 1912.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 32 enthaltenen Arbeiten.

- Appel, O.**, Zur Kenntnis der Bakterienfäule der Kartoffel. 319
— und **Schlumberger, O.**, Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten 324
—, —, Zur Kenntnis der Blattrollkrankheit der Kartoffel. 321
Arens, Federico, *Loranthus sphaerocarpus* auf *Dracaena spec.* (Orig.) 564
Babcock, S. M., Über die Anwendung niederer Temperaturen bei der Behandlung von Käse und bei dessen Aufbewahrung. 250
Bainier, G., *Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie.* 278
Bancroft, Keith, A bacterial disease of potato and tomato. 319
—, A note on the canker of *Hevea brasiliensis.* 342
Bargmann, Warum verschwinden Tannensaaten und Tannenanflug so oft wieder? 332
Bassett, H. P. s. Cook, Melville Thurston.
Baudisch, Oskar, Über Nitrat- und Nitritassimilation und über eine neue Hypothese der Bildung von Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen. (Orig.) 520
Beckwith, P. D., Ein halophytischer *Diplococcus.* 193
Behrens, W. und Marpmann, G., Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln. 326
Bersch, Wilhelm, Hefen, Schimmelpilze und Bakterien. 222
Bönisch, E., Zersetzung und Wirkung organischer Stickstoffdünger. 274
Bokorny, Th., Einwirkung einiger basischer Stoffe auf Keimpflanzen, Vergleich mit der Wirkung auf Mikroorganismen. (Orig.) 587
Borgers, Der Ulmensplintkäfer und seine Verbreitung am Niederrhein. 339
Boselli, J., *Etude de l'inulase d'Aspergillus niger.* 231
Breed, R. S. und Stedger, J. Read, Die normale Zahl von Körperzellen in Kuhmilch. 196
Brick, C., Über Kartoffelkrankheiten. 315
Briosi, Giovanni, *Rassegna crittogamica per il primo semestre dell' anno 1907 con notizie sul carbone e la carie dei cereali.* 276
—, *Rassegna crittogamica dell' anno 1909 con notizie sulle malattie dei trifogli e delle vecchie causate da parassiti vegetali.* 276
Bruhn, Walter, Beitrag zur Flora des Kiefernwaldes und zur Wuchsform der Kiefer (*Pinus silvestris*). 332
Bruschi, D. s. Pantanelli, D.
Brux, Pflanzenimpfversuche der landw. Kreiswinterschule Traunstein. 262
Busse, W., Peter, L. und Ulrich, P., Über das Vorkommen von Wurzelbrandregern im Boden. 305
Butler, E. D., Potato blight (*Phytophthora infestans*). 327
Carbone, D., Su la decomposizione aerobica della cellulosa. 252
— e **Rusconi, M.**, Attorno ad alcune attività di un *Penicillium.* 231
—, —, Su la scissione dell' acido ippurico per opera dei microorganismi dei salumi. 243
Coker, W. C., A new host and station for *Exoascus filicinum.* 292
Conn, H. J., Bacteria of frozen Soil. II. (Orig.) 70
—, Bakterien im gefrorenen Boden. 198
Conn, H. W., Die Bakterienflora der Milch. 195
Cook, Melville Thurston and Taubenhaus, J. J., The relative of parasitic fungi to the contents of the cells of the host plants (I. The toxicity of tannin). 291
—, —, **Bassett, H. P., Thompson, Firman and Taubenhaus, J. J.**, Protective enzymes. 235
Cooley, J. S. s. Reed, Howard, S.
Crawfort, D. L., Castilla Rubber Pests in Mexico. 341
Csókás, Gyula s. Varga, Oskar.
Currie, J. R., Experiments in the storage of river waters. 247
Dafert, F. W., Bericht über die staatlichen Maßnahmen anlässlich des Auftretens und

Zweite Abt. Bd. 32.

39

- der Verbreitung der Blattrollkrankheit der Kartoffel in den Jahren 1908—1910. 322
- Dam, W. van**, Über die Konsistenz der Käsemasse bei Edamerkäsen. (Orig.) 7
- Davidsohn, H. s. Michaelis, L.**
- Dean, W. Harper**, The Sorghum Midge (Contarinia [Diplosis] sorghicola Cog.). 301
- Delaval, H. s. Kayser, E.**
- Dietel, P.**, Einige Bemerkungen zur geographischen Verbreitung der Arten aus den Gattungen Uromyces und Puccinia. 284
- Dobell, C. Clifford**, Contributions to the cytology of the Bacteria. 226
- Doby, G.**, Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. I. Die Oxydasen der ruhenden Knollen. 321
- Dohrandt**, Über die Entblätterung der Alleepappeln am Puschkinboulevard zu Riga. 339
- Doidge, Ethel M.**, The flora of certain Kaffir beers „Leting and Joala“. 248
- Doroguine**, Une maladie cryptogamique du Pin. 333
- Dox, Arthur, W.**, The Phosphorus Assimilation of Aspergillus niger. 231
- Ducomet, V.**, Recherches sur quelques maladies de plantes cultivées. 288
- Duggar, B. M.**, Physiological plant pathology. 287
- Edgerton, C. W.**, Trochilia populorum Desm. 339
- Edwards, S. F.**, Lebensfähigkeit des Pa. radicola auf Maltoseagar. 199
- Einecke s. Lemmermann.**
- Elsler, E. s. Heinricher, E.**
- Engler, A.**, Untersuchungen über den Blattausbruch und das sonstige Verhalten von Schatten- und Lichtpflanzen der Buche und einiger anderer Laubhölzer. 339
- Eriksson, A.**, Über die Hemmung der Invertinwirkung. 238
- Eriksson, Jakob**, Rostige Getreidekörner und die Überwinterung der Pilzspezies. (Orig.) 453
- , F. Zachs zytologische Untersuchungen über die Rostflecken des Getreides und die Mycoplasmatheorie. 294
- Euler, H. und Fodor, A.**, Zur Kenntnis des Hefengummis. 234
- und **Lundquist, G.**, Zur Kenntnis der Hefegärung. 233
- und **Kullberg, S.**, Über das Verhalten freier und an Protoplasma gebundener Hefenenzyme. 233
- Evans, J. B. Pole**, South African cereal rusts, with observations on the problem of breeding rust resistant wheats. 297
- Feilitzen-Jönköping, Hjalmar von**, Noch einmal Azotogen, Nitragin und Naturimpferde. (Orig.) 449
- Feist, K.** Nachweis einer Schädigung von Fichten durch Röstgase. 331
- Felsinger, L.**, Stickstoffbindung und -entbindung. 267
- Fettick, O.**, Erdbeergeruch erzeugendes Bakterium (Pseudomonas fragarioidea Huß) als Ursache eines Milchfehlers. 230
- Firman s. Cook, Melville Thurston.**
- Fischer s. Lemmermann.**
- Fodor, A. s. Euler, H.**
- Förster s. Lemmermann.**
- Francé, R. H.**, Studien über edaphische Organismen. (Orig.) 1
- Fraser, W. P.**, Cultures of some heterococious rusts. 283
- Fred, Edwin Broun**, Eine physiologische Studie über die nitratreduzierenden Bakterien. (Orig.) 421
- Fron, G.**, Maladie du Pinus strobus déterminée par Lophodermium brachysporum Rostrup. 331
- Fuchs, Oskar**, Beiträge zur Biologie des Rübennematoden, Heterodera Schachtii. 312
- Fulmek, Leopold**, Die Rübennematode (Heterodera Schachtii Schm.), ihre Naturgeschichte und Bekämpfung. 314
- Gage, Stephen de M.**, Untersuchungen über Nährböden für die Keimzählung in Wasser, Abwasser usw. 200
- La Garde**, Über Aerotropismus bei Schimmelpilzen. 230
- Gerber, C.**, Action des sels des métaux du groupe aurique sur la saccharification de l'empoirs d'amidon par les ferments amylolytiques. 252
- Gironcourt, G. de**, Sur le fromage de Touareg. 251
- Gorini, Costantiono**, Das Verhalten der säure-labbildenden (acidoproteolytischen) Bakterien des Käses gegenüber niedrigen Temperaturen hinsichtlich ihrer Mitwirkung beim Reifen der Käse. (Orig.) 406
- Goverts, W. J.**, Über Spargelkäfer. 302
- Grazia, S. de**, Su l'intervento dei microorganismi nell' utilizzazione dei fosfati insolubili del suolo da parte delle piante superiori. 270
- Griffon, E. et Maublane, A.**, Deux moisissures thermophiles. 232
- , —, Notes de pathologie végétale. 287
- Grimm, Max**, Die Hauptphasen der Milchsäuregärung und ihre praktische Bedeutung. (Orig.) 65
- Grimmer, W.**, Bemerkungen zu der Arbeit von W. D. Kooper, Untersuchungen über Katalase. 242
- , Zur Kenntnis der Milchperoxydase. 250
- Günther, H. K.**, Keim- und Anbauver-

- suche mit naturellen und präparierten Rübensamen. 308
- Gutzzeit, Ernst**, Über die angebliche Vermehrung der Bakterien in der Milch durch mechanische Einwirkung. 248
- Haack**, Der Schüttepliz der Kiefer. 336
- Haid, R.**, Die Vorteile der Reinhefe bei der Vergärung von stark geschwefeltem Most 248
- Hamann**, Die Blattrollkrankheit der Kartoffeln. 320
- Hamsik, A.**, Zur Kenntnis der Pankreaslipase. 241
- Harding, H. A. s. a. Wilson, J. K.**
- Harding, H. A.**, Über den Wert bakteriologischer Keimzählungen bei der Kontrolle städtischer Milchversorgungen. 196
- und **Wilson, J. K.**, Beziehungen zwischen der Form des Melkeimers und dem Keimgehalt der Milch. 195
- Heald, F. D.**, Rhizoctonia medicaginis in Amerika. 302
- Hedin, G.**, Über das Labzymogen des Kalbsmagens. 236
- Hegy, D.**, Der Wurzelbrand der Zuckerrübe und seine Verhütungsmaßregeln. 305
- Heinricher, E. und Elsler, E.**, Pachyme Cocos Fr. Ein interessanter Pilzfund für Tirol. 281
- Heinze, B.**, Kalkstickstoff und Kalksalpeter als Stickstoffdünger. 269
- , Über die Mitwirkung und den praktischen Wert der Mikroorganismen bei der Stickstoff-Versorgung des Bodens und der Pflanzen. 261
- Herter, W.**, Autobasidiomycetes. 285
- Herzog, O., Ripke, O. und Saladin, O.**, Über das Verhalten einiger Pilze zu organischen Säuren. 224
- Hiltner**, Welches sind die Ursachen der geringen Kartoffelernte 1910 und welche Maßnahmen sind in Zukunft vorzusehen? 318
- Höhnelt, J. von**, Mykologische Fragmente. C. XVIII. Über die Gattung Hyalodema. 278
- Hoffmann, Hans A. W.**, Zur Entwicklungsgeschichte von Endophyllum Semper-vivi. (Orig.) 137
- Honcamp**, Untersuchungen über die Wirkung der Brandsporen im Futter und im Dünger. 296
- Horne, A. S.**, On potato "leaf blotch" and "leaf curl". 327
- Hotter, Herrmann und Stumpf**, Studien und Versuche über den Wert der Wurzelrückstände verschiedener Kulturpflanzen als Stickstoffsammler und Gründünger. 262
- Huyge, C. s. Marcas, L.**
- Jennings, H.**, Das Verhalten der niederen Organismen unter natürlichen und experimentellen Bedingungen. 226
- Jensen, Orla**, Der jetzige Stand der Käse-reifungsfrage. (Vortrag.) 202
- Itia, Hugo**, Über eine durch Maisbrand verursachte intracarpellare Prolifikation bei Zea Mays L. 299
- Johnston, John R.**, Is Bacillus coli ever a plant parasite? 281
- Istvánfi, Gy. von und Pálkás, Gy.**, Infektionsversuche mit Peronospora. (Orig.) 551
- Juel, O.**, Notizen über Parasitenpilze. 277
- Kayser, E. et Delaval, H.**, Contribution à l'étude du pain visqueux. 243
- Keißler, Karl von**, Zwei neue Flechtenparasiten aus Steiermark. 292
- , Micromycetes. 280
- Kellerman, K. F.**, Nitrogen Gathering Plants. 268
- Kern, F. D.**, Two new species of Uromyces. 283
- Khan, A. H.**, Root infection of Trametes Pini Fr. 335
- Kienitz, M.**, Beitrag zur Frage der Kernholz-bildung bei der Kiefer. 338
- Kießling**, Untersuchungen über die Keimreife der Getreide. 292
- Köck, Gustav**, Beobachtungen über den Befall verschiedener Kirschen- und Weichelsorten durch den Moniliapilz (Sclerotinia cinerea [Bon] Schröt.) 284
- , Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. 319
- und **Kornauth, K.**, Studien der Ursache der Blattrollkrankheit der Kartoffel und über die Möglichkeit der Übertragung dieser Krankheit durch das Saatgut und den Boden. 322
- Kelpin Ravn, F. s. Mortensen, M. L.**
- König, J., Kuhlmann, J. und Thienemann, A.**, Die chemische Zusammensetzung und das biologische Verhalten der Gewässer. 244
- Kövessi, F.**, Nouvelles recherches sur la prétendue utilisation de l'azote de l'air par certains poils spéciaux des plantes. 257
- Kooper, W.**, Untersuchungen über die Katalase. 241
- Kornauth, K. s. Köck, G.**
- Kossowicz, A.**, Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie. 243
- , Einführung in die Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe. 242
- Krankheiten und Beschädigungen der Kulturpflanzen im Jahre 1909.** Zusammenge-stellt in der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 289
- Kühl, Hugo**, Zur Charakteristik des Aspergillus glaucus Link. 231
- Küster, Ernst**, Über Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse. 291

- Kufferath, H.**, Note sur les tropismes du Bac. Zopfii Kurth. 230
- Kuhlmann, J. s. König, J.**
- Kullberg, S. s. Euler, H.**
- Lafar**, Handbuch der technischen Mykologie. 217
- Lainé, E. s. Müntz, A.**
- Laubert, R.**, Bittere Melonen. 330
- , Die Corynespora - Blattfleckenkrankheit der Gurke, ihre Verbreitung und Bekämpfung. 329
- Lebedeff, A.**, La zymase est-elle une diastase? 238
- Lemcke, A.**, Getreideschädlinge. 294
- Lehmmermann, Einecke und Fischer**, Untersuchungen über die Wirkung eines verschiedenen Verhältnisses von Kalk und Magnesia in einigen Böden auf höhere Pflanzen und Mikroorganismen. 265
- , Förster und Einecke, Untersuchungen über das Kalkbedürfnis der Ackerböden auf Grund von Bodenuntersuchungen und Vegetationsversuchen. 263
- Lemoigne**, Bactéries dénitrifiantes des lits percolateurs. 266
- Lewis, Charles E.**, Occurrence of Monascus Barkeri in bottled pickles. 232
- Lind, J.**, Systematic List of Fungi (Micromycetes) from North East Greenland, collected by the "Danmark-Expedition". 278
- Lindau, G.**, Die Kenntnis der durch Fusariumarten hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten. 285
- , Über Wanderungen parasitischer Pilze. 281
- Linossier, G.**, Influence du fer sur la formation des spores de l'Aspergillus niger. 230
- Lipman, Chas. B.**, Toxic effects of „Alkali Salts“ in soils on soil Bacteria. I. Ammonification. (Orig.) 58
- Lipman, Jakob G.**, Suggestions concerning the terminology of soil bacteria. 256
- Lippmann, O. von**, Ein Vorkommen von d-Galaktose. 239
- Löhnis, F.**, Landwirtschaftlich-bakteriologisches Praktikum. 222
- Lötsch, E. s. Scheunert, A.**
- Lüstner s. Remy.**
- Lundequist, G. s. Euler, H.**
- Maire, R. et Tison, A.**, Nouvelles recherches sur les Plasmodiophoracées. 328
- Mameli, Eva e Pollacci, G.**, Su l'assimilazione diretta dell' azoto atmosferico libero nei vegetali. 257
- Manicardi, C.**, Anomalie nello sviluppo delle gemme di Quercus caudata dal parasitismo di Cnethocampa processionea S. 341
- Marcas, L. et Huyge, C.**, Origine de l'ammoniaque dans le lait. Interprétation de sa présence. 248
- Marpmann, G. s. Behrens, W.**
- Massart, J.**, Sur les ronds de sorcière de Marasmius Oreades Fries. 287
- Massee, G.**, Fungi exotici. XI. 279
- Matejka, Franz**, Krankheiten forstlicher Holzgewächse. Vorlesungen für Forstlehranstalten, Teil I. [Choroby lesních dřevin. Přednášky pro lesnické ústavy. I. díl.] 331
- Maublanc, A. s. Griffon, E.**
- Mayor, Eug.**, Recherches expérimentales sur quelques Urédinées hétéroiques. 282
- Mayr, Heinrich**, Schüttekrankheit und Provenienz der Föhre (Kiefer). 335
- Maze**, Recherches sur la formation d'acides nitreux dans la cellule vivante. 258
- Mencl, Em.**, Nachträge zu den Kernstrukturen und Kernäquivalenten bei Bakterien. 224
- Mensio, C.**, Il Moscato d'Asti spumante. II. 247
- Mer, Emile**, Le Lophodermium macrosporum, parasite des aiguilles d'épicéa. 337
- Meyer, K.**, Über Anti-Bakterienproteasen. 239
- Michaelis, L. und Davidsohn, H.**, Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin. 239
- Mieczynski, R.**, Der Einfluß des Steinbrandes auf die Form der Weizenähren. 300
- Molliard**, De l'action du Marasmius Oreades Fr. sur la végétation. 287
- Montemartini, L.**, La fioritura precoce delle barbabietote. 311
- Moore, V. A.**, Ansprache des Präsidenten über die Bakteriologie in der allgemeinen Erziehung. 193
- Mooser**, Biologisch-chemische Vorgänge im Erdboden. 252
- Mortensen, M. L.**, Über die durch Fusarien hervorgerufenen Getreidekrankheiten. [Om Sygdomme hos Kornarterne, forarsagede ved Fusarium-Angreb (Fusarioser).] 293
- und **Rostrup, Sofie**, Monatliche Übersichten über die Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. April 1911. (Maanedlige Oversigter over Sygdomme hos Landbrug ets Kulturplanter fra de samvirkende danske Landboforeningers plantepatologiske Forsøgsvirksomhed 36. April 1911.) 288
- , — und **Kelpin Ravn, F.**, Übersicht über die Krankheiten der Kulturgewächse im Jahre 1910. [Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1910. 13. Beretning fra de samvirkende danske Landboforeningers plantepatologiske Forsøgsvirksomhed.] 289
- Müntz, A. et Lainé, E.**, Les phénomènes

- d'épuration des eaux d'égout par le sol et par les lits bactériens. 246
- , —, Sur les pertes de l'azote au cours de l'épuration de l'eau par les lits bactériens. 246
- Munerati, O.**, La Sphacelotheca reiliana Kühn nel Sorghum halepense. 301
- Munk, Max**, Bedingungen der Hexenringbildung bei Schimmelpilzen. (Orig.) 353
- Muth, Fr.**, Über das Verhalten der Gurken in diesem Sommer. 329
- Namyslowski, Bolesl.**, Beitrag zur Kenntnis der Rostpilze. [Przyczynek do znajomości rdzy. 282
- Nazari, V.**, Azione di alcune ossidasi artificiali e di diversi composti metallici su la germinazione e su l'accrescimento delle piante. 237
- Neger, F. W.**, Die Rötung des frischen Erlenholzes. 339
- Némec, B.**, Die Rüben nematode. 311
- , Über die Nematodenkrankheit der Zuckerrübe. 311
- , Über eine Chytridiazee der Zuckerrübe. 306
- Niklowski, Bronislaw**, Bodenbakteriologische Beobachtungen als Mittel zur Beurteilung von Böden. (Orig.) 209
- Orsi, Alois**, Krankheiten und tierische Schädlinge an Obstbäumen und deren Bekämpfung. 343
- Osterwalder, A.**, Über die Bildung flüchtiger Säure durch die Hefe nach der Gärung bei Luftzutritt. (Orig.) 481
- Paál, Arpád**, Teratologische Beobachtungen bei Phaseolus. [Teratologiai megfigyelések a Phaseolus.] 328
- Palm, Björn**, Neue Beiträge zur Pilzflora der Stockholmer Gegend. [Nya bidrag till Stockholms stråktens svampflora.] 278
- Pálincás, Gy. s. Istvánffy, Gy. von.**
- Pantanelli, E. e Bruschi, D.**, Ricerche preliminari su la secrezione dell' amilasi. 240
- e **Severini, G.**, Alcune esperienze su la nutrizione azotata delle piante verdi con diversi sali di ammonio. 258
- Parsons, Payn B.**, Apparat zur Entnahme von Wasser aus größerer Tiefe. 197
- , Bakterien im Wasser des Newyorker Hafens. 197
- , Die Stärke der Verunreinigung gemessen nach der Zahl der Bakterien. 197
- Peglion, V.** Intorno allo svernamento dell' oidio della quercia. 341
- Pennington, L. H.**, Upon assimilation of atmosphaeric nitrogen by fungi. 260
- Perotti, R.**, Sopra i metodi di misura dell' attività microbica nel terreno agrario. 252
- Peters, L. s. a. Busse, W.**
- Peters, L.**, Seitenwurzelerkrankungen der Futter- und Zuckerrüben. 308
- , Über die Erreger des Wurzelbrandes. 303
- Pethybridge, Geo H.**, Considerations and experiments on the supposed infection of the potato crop with the blight fungus (Phytophthora infestans) by means of mycelium derived directly from the planted tubers. 316
- , Investigations on potato diseases. 315
- , The „bladder rust“ of scots pine. 335
- Pollacci, G. s. Mameli, Eva.**
- Popp**, Impfversuche mit Azotogen. 269
- Pringsheim, Hans**, Die Bedeutung stickstoffbindender Bakterien. 262
- Profé, O.**, Beitrag zur Milchversorgung großer Städte. 249
- Rahn, Otto**, Der Einfluß von Quarzsand auf Bakterienkulturen. 201
- , Die Stundengärleistung der Einzelzelle von Bacterium lactis acid. (Orig.) 375
- , Über die Gärkraft der einzelnen Bakterienzelle (Bacterium lactis acid). 193
- Reddick, Donald s. Whetzel, H. H.**
- Reed, Howard S. and Cooley, J. S.**, Heterosporium variabile Cke., its relation to Spinacia oleracea and environmental factors. (Orig.) 40
- Reinhard, A. s. Zaleski, W.**
- Reiß, A.**, Studien über die Bakterienflora des Mains bei Würzburg in qualitativer und quantitativer Hinsicht. 244
- Remy und Lüstner**, Bericht über das Auftreten von Feinden und Krankheiten der Kulturpflanzen in der Rheinprovinz im Jahre 1910. 290
- Riehm, E.**, Über den Zusammenhang zwischen Rhizoctonia solani Kühn und Hypochnus solani Prill. et Del. 316
- Ripke, O. s. Herzog, O.**
- Rörig, G.**, Die Sommergeneration der Getreideblumenfliege (Hylemyia coarctata). 294
- Rogers, L. A.**, Die Verwendung von Gärproben bei der Untersuchung von Milchsäurebakterien. 195
- Rohonyi, H.**, Enzymwirkungen und elektrolitische Dissoziation. 236
- Rosenthal, J.**, Die Enzyme und ihre Wirkung. 234
- Rostrup, Sofie s. Mortensen, M. L.**
- Rusconi, M. s. Carbone, D.**
- Saladin, O. s. Herzog, O.**
- Sasaki, C.**, On the life history of Trioza Camphorae n. sp. of Camphor tree and its injuries. 341
- Schander, R.**, Einfluß des Bodens, der Bodenbearbeitung und der Düngung auf das Auftreten des Wurzelbrandes und der Herz- und Trockenfäule. 306

- Schander, R.**, Über Wurzelbrand, Herz- und Trockenfäule. 308
- Schechner, Kurt**, Krankheiten an Nutzpflanzen und Ziergewächsen des Gartens im Jahre 1910. 290
- Schellenberg, H. C.**, Die Brandpilze der Schweiz. 295
- Scheunert, A. und Lötsch, E.**, Fütterungsversuche mit *Tilletia*. 296
- Schindler, F.**, Sechsjährige Versuche mit Nitraginimpfung nebst Beiträgen zur Gründungsfrage. 260
- Schlumberger, O. s. Appel, O. u. Wollenweber, H. W.**
- Schmidt, Ernst Willy**, Die Beziehungen der Oxydationsfermente zur Pflanzenatmung. 237
- Schmidt, W.**, Kurze Darstellung der Phänomene der Gärung und ihrer Beziehungen zur Praxis. Teil II. 232
- Schneider, Werner**, Zur Biologie der Liliaceen bewohnenden Uredineen (Orig.). 452
- Schneider-Orelli, Mathilde**, Über nordafrikanische Zooecidien. (Orig.) 468
- Schneider-Orelli, O.**, Versuche über die Wachstumsbedingungen und Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes. (Orig. Ref.) 161
- , Zur Kenntnis des mitteleuropäischen und des nordamerikanischen *Gloeosporium fructigenum* (Orig.) 459
- Schöne, Albert**, Über eine starke Zersetzung eines Rübenroh-zuckers. 251
- Schroeter, O.**, Vergleichende Prüfung bakteriologischer und biochemischer Methoden zur Beurteilung der Milch (Orig. Ref.) 181
- Schulze, B.**, Die Leistung des Nitrats bei Vegetations- und Feldversuchen. 269
- Selby, A. D.**, The blister rust of white pine (*Peridermium Strobi* Klebahn) found in Ohio. 333
- Severini, G. s. a. Pantanelli, E.**
- Severini, G.**, Su le formazioni tubercolari nello *Juniperus communis*. 338
- Sewerin, S. A.**, Die Mobilisierung der Phosphorsäure des Bodens unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit der Bakterien (Orig.) 498
- Sharp, Lester W.**, Nuclear phenomena in *Puccinia podophylli*. Prelimin. note. 284
- Simon**, Über die Herstellung der Azotogen-Impfstoffe für Hülsenfrüchte. 266
- Spaulding, Perley**, The Blister Rust of white Pine. 333
- , The rusts of *Tsuga canadensis*. 338
- Spisar, Karl**, Die Flachsseide und die Zuckerrübe. 314
- Stedger, J. Read s. Breed, R. S.**
- Stettner, O.**, Eine Monstrositätenbildung bei Mais. 299
- Stewart, F. C.**, Notes on New York plant diseases. I. 287
- Stift, A.**, Über das Auftreten von Blattfleckenkrankheiten auf Futter- und Zuckerrüben. 310
- , Über das Auftreten der Blattläuse auf Zuckerrüben. 308
- , Zur Geschichte der Herz- und Trockenfäule. 306
- , Zur Geschichte des Wurzelbrandes. 303
- Störmer, K.**, Versuche über die Beeinflussung der Wirkung des Gründungs-Stickstoffs durch Zugabe von Stroh. 274
- , Wovon hängt das Auftreten der Kartoffelkrankheiten ab und mit welchen Maßnahmen bekämpft man sie? 317
- Stumpf s. Hotter, Hermann.**
- Stutzer, A.**, Über Nitride in ihren Wirkungen auf Pflanzen. 268
- Sullivan, M. H.**, Biochemische Faktoren im Boden. 198
- Swoboda, W.**, Die Insektenschädlinge unserer wichtigsten Gemüsepflanzen. 327
- Sydow, H. und P.**, *Fungi africani novi*. 279
- Székács, Elemér**, Erfahrungen über die Rostkrankheiten des Getreides. 299
- Taubenhaus, J. J. s. Cook, Melville Thurston.**
- Takeuchi, T.**, Eine technische Anwendung der Urease. 240
- Teichert, K.**, Über die Bereitung von Labkugeln. 237
- Thaer, Willi**, Der Einfluß von Kalk und Humus auf die mechanische, physikalische und chemische Beschaffenheit von Ton-, Lehm- und Sandboden. 271
- Thienemann, A. s. König, J.**
- Thompson, s. Cook, Melville Thurston.**
- Tison, A. s. Maire, R.**
- Torrend, C.**, *Trametes ochroleuca* (Berk.) Bres. v. *lusitanica* Torrend. 286
- Tubert, Karl von**, Die Brandkrankheiten des Getreides. 295
- Ulrich, P. s. Busse, W.**
- Uzel, H.**, Krankheiten und Feinde der Zuckerrübe in Böhmen und anderer kultivierter Pflanzen im Jahre 1909. 302
- , Über die auf der Zuckerrübe lebenden Blattflöhe. 309
- Varga, Oskar und Csókás, Gyula**, Mykologische Studie über die Flachs- und Hanfröste. [Mykologiai tanulmány a kender és len áztatásáról.] 275
- Vater, H.**, Die Tharandter Forstdüngungsversuche. 260
- Vickery, A. R.**, Contributions to a knowledge of the Corn Root-Aphis. 298
- Vogel**, Über den Einfluß von kohlen-saurem Kalk auf die Umwandlung von Ammoniakstickstoff und Nitratstickstoff. 261
- , Untersuchungen über das Kalibedürfnis von *Azotobacter* (Orig.) 411

- Vogel**, Ammoniak- und Salpeterassimilation durch Mikroorganismen des Bodens. (Orig. Ref.) 169
- Voges, Ernst**, Zum Parasitismus von *Nectria* und *Fusicladium* (Orig.). 540
- Vuillemin, P.**, Le Blanc du Chêne. 341
- Wager, Harold**, The yeast cell. 233
- Wagner**, Eine neue Haferkrankheit, ihre Entstehung und Bekämpfung. 301
- Wahl, Bruno**, Über zwei neue Hopfenschädlinge. 330
- Walpole, G.**, The action of *Bac. lactis aërogenes* on glucose and mannitol. Part. II. The investigation of the 2:3 butanediol and the acetylmethylcarbinol formed; the effect of free oxygen upon their production; the action of *Bac. lactis aërogenes* on fructose. 232
- Warburton, C. W.**, Ergot on oats. 300
- Weese, Josef**, Zur Kenntnis des Erregers der Krebskrankheit an den Obst- und Laubholzbäumen. 343
- Welter**, Beitrag zur Kenntnis der Reversibilität der Enzymwirkung. 236
- Werth, Emil**, Zur Biologie des Antherenbrandes. 297
- Whetzel, H. H. and Reddick, Donald**, Development of *Claviceps*. 300
- White, Jean**, The proteolytic enzyme of *Drosera*. 239
- Will, H.**, Betrachtungen zur biologischen Untersuchung von Brauwasser (Orig. Ref.). 179
- Wilson, J. K. s. a. Harding, H. A.**
- Wilson, J. K.**, Untersuchungen über die Desinfektion von Grassamen. 201
- , und **Harding, H. A.**, Eine Methode, um Bakterien von wachsenden Pflanzen abzuhalten. 202
- Wlodek, von**, Beiträge zur Frage der Ammoniakverdunstung- und Umwandlung im Boden. 270
- Wolff, Max**, Die Verwendung des Plate-schen alkoholometrischen Meßbesteckes auf dem Mikroskopiertisch. (Orig.). 605
- Wollenweber, H. W.**, Untersuchungen über die natürliche Verbreitung der Fusarien an der Kartoffel. 326
- und **Schlumberger, O.**, Infektionsversuche mit Kartoffelbewohnenden Pilzen. 315
- Young, J.**, Über die Zusammensetzung der durch Hefepreßsaft gebildeten Hexosephosphorsäure. II. 234
- Zaleski, W. und Reinhardt, A.**, Über die fermentative Oxydation der Oxalsäure. 238
- Zipfel, Hugo**, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen. 97

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Abies pectinata*, Schädigung durch *Chyromyxa rhododendri*. 277
- Abwasser, Reinigung, Stickstoffverluste. 246
- Acacia armata*, Wurzelknöllchen 268
- *cyanophylla*, Wurzelknöllchen 268
- *dealbata*, Wurzelknöllchen. 268
- *esterhazia*, Wurzelknöllchen. 268
- *farnesia*, Wurzelknöllchen. 268
- *latifolia*, Wurzelknöllchen. 268
- *koa*, Vorkommen von *Hysterium angustatum*. 280
- Acer negundo*, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
- *platanoides*, Trichombildung in stickstoffreicher Atmosphäre. 257
- *pseudoplatanus*, Trichombildung in stickstoffreicher Atmosphäre. 257
- Acherontia atropos*, Schädling von Mohrrüben. 327
- Acrolepia betulella*, Schädling von Porree. 328
- — — Zwiebeln. 328
- Acrostalagmus cinnabarinus*, Hexenringbildung, Wirkung von Alkali. 361
- Acrostalagmus cinnabarinus*, Hexenringbildung, Wirkung der Temperatur. 371
- — — — Transpiration. 366
- Actaea spicata*, Schädigung durch *Puccinia actaeae-elymi*. 282
- Actinomyces*, Bedeutung für die Selbstentzündung von Rohrzucker. 225
- *chromogenes alba*, Vorkommen im Mainwasser. 245
- *chromogenus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
- *thermophilus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
- Adoxa moschatellina*, Schädigung durch *Ramularia adoxae*. 276
- Aecidium*, Schädling von *Actaea spicata*, Zugehörigkeit zu *Puccinia* auf *Triticum caninum*. 282
- — — *Ribes alpinum*, Beziehung zu *Puccinia* auf *Carex digitata*. 282
- *aposoeridis* n. sp., Schädling von *Aposoeris phoetida*. 282
- — — — Unterschied von *A. compositarum*. 282

- Aecidium compositarum*, Unterschied von *A. aposoeridis*. 282
 — *punctatum*, nördlichster Standort. 278
 — *ugandense*, Schädling von *Turrea*. 279
 Äpfel, Pilzflora. 164
 —, Tanninbildung zum Schutz gegen Parasiten. 235
Aesculin-Bouillon, Schwärzung durch verschiedene Bakterien. 182
Aesculus hippocastanum, Trichombildung in stickstoffreicher Atmosphäre. 257
 Äthylamin, Wirkung auf die Keimung von Samen. 593
Afzelia bijuga, Schädigung durch *Hyaloderma afzeliae*. 280
Agriotes lineatus s. a. Drahtwürmer.
 —, Schädling von Getreide. 289
Agrostis stolonifera, Hexenringe. 290
Agrotis, Schädling von Petersilie. 328
 —, — — Sellerie. 328
 — *exclamationis*, Schädling vom Lattich. 327
 —, — — Salat. 327
 — *pronuba*, Schädling vom Kohl. 327
 —, — von Mohrrüben. 327
 — *segetum*, Schädling vom Kohl. 327
Alchemilla peltata, Schädigung durch *Puccinia aliena*. 279
 Algen, Assimilation von freiem Stickstoff. 257
 Alkali, Wirkung auf die Hexenringbildung von Pilzen. 361
 Alkohol und Formaldehyd, Samensterilisation. 201
 Alkoholprobe von Milch, Wert. 184
Allium ampeloprasum, Infektion mit *Puccinia porri*. 453
 — *fistulosum*, Infektion mit *Puccinia porri*. 453
 — *hymenorrhizum*, Infektion mit *Puccinia porri*. 453
 — *montanum*, Infektion mit *Puccinia porri*. 453
 — *oleraceum*, Infektion mit *Puccinia porri*. 453
 — *sphaerocephalum*, Infektion mit *Puccinia porri*. 453
 — *strictum*, Infektion mit *Puccinia porri*. 453
Alnus s. a. Erle.
 —, Wurzelknöllchen. 268
Alternaria, Stickstoffassimilationsvermögen fehlt. 260
 — *brassicae*, Schädling von *Brassica napus* (?). 277
 — *f. nigrescens*, Schädling von *Cucurbita pepo*. 277
 — *solani*, Schädling von Kartoffeln. 315
 — *tenuis*, Schädling von *Cucurbita pepo*. 277
 — *vitis*, Schädling vom Weinstock. 276
Alucita mictodactyla, Schädling vom Kohl. 327
Amaranthus hybridus, Schädigung durch *Aphis maidi-radici*. 298
Amblystegium irriguum, Assimilation freien Stickstoffs. 257
Ambrosia trifida, Schädigung durch *Aphis maidi-radici*. 298
Ammochloa subacaulis, Schädigung durch *Tilletia pulcherrima*. 279
 Ammoniak, Assimilation durch Bodenbakterien. 169
 —, Bildung durch *Bacterium casei* limburgensis. 207
 —, Verdunstung und Umwandlung im Boden. 270
 —, Vorkommen in Milch. 248
 —, Wirkung auf die Keimung von Samen. 589
 Ammoniakstickstoff, Festlegung im Boden, Wirkung von Calciumkarbonat. 169
 Ammonsalze, Wert als Düngemittel. 258
 —, Wirkung auf die Keimung von Samen. 589
Amoeba limax, Vorkommen im Boden. 2
 — *terricola*, Vorkommen im Boden. 2
 — *verrucosa*, Vorkommen im Boden. 2
Amphipyra tragopogonis, Schädling vom Spinat. 328
 Amylasen, Spezifität. 240
 —, Wirkung von Cadmiumchlorid. 252
Andricus singulus, Gallenbildung an *Quercus ilex*. 470
Andropogon sorghum, alkoholisches Getränk, Vorkommen von Bakterien. 248
 —, — —, — — Hefe. 248
 —, — —, — — *Mucor rouxii*. 248
 Anilin, Wirkung auf die Keimung von Samen. 591
 Anilinfarben, Zerstörung durch *Penicillium*. 231
Antennaria elaeophila, Schädling von *Olea europaea*. 276
Anthocoris, Verbreitung von *Gloeosporium*. 166
Anthomyia brassicae, Schädling von Kohlrüben. 290
 — *ceparum*, Schädling von Porree. 328
 —, — — Zwiebeln. 328
 — *conformis*, Schädling von Rüben. 289
 — *floralis*, Schädling vom Rettig. 327
 — *fuscata*, Schädling von Porree. 328
 —, — — Zwiebeln. 328
 — *lactucarum*, Schädling vom Lattich. 327
 —, — — Salat. 327
 — *platura*, Schädling von Schalotten. 328
 — *trimaculata*, Schädling vom Kohl. 327
Anthonomus piri, Schädling von *Pirus communis*. 277
 — *pomorum*, Schädling von Obstbäumen. 343
Anthoxanthum odoratum, Schädigung durch *Puccinia anthoxanthi*. 277
Anthurium, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
 Antiproteasen, Untersuchung. 239
 Antisual, Wertlosigkeit als Pflanzenschutzmittel. 290

- Apfelbaum s. a. *Pirus malus*.
 —, Schorfkrankheit. 343
 —, Vorkommen von *Nectria ditissima*. 540
Aphalara calthae, Schädling von Zuckerrüben. 302
Aphanomyces laevis, Schädling an Zuckerrüben. 303
 — —, Seitenwurzelerkrankung an Zuckerrüben. 308
 — —, Vorkommen im Boden. 305
Aphis brassicae, Schädling vom Kohl. 327
 — —, Schädling vom Rettich. 327
 — *capreae*, Schädling von Fenchel. 328
 — —, Schädling von Kümmel. 328
 — *cartae*, Schädling von Mohrrüben. 327
 — *foeniculi*, Schädling von Fenchel. 328
 — —, Schädling von Kümmel. 328
 — *lactucae*, Schädling vom Lattich. 327
 — —, Schädling vom Salat. 327
 — *maidi-radiciis*, Schädling von *Amaranthus hybridus*. 298
 — — —, Schädling von *Ambrosia trifida*. 298
 — — —, Schädling von Artischocken. 298
 — — —, Schädling von Atern. 298
 — — —, Schädling von Baumwollpflanzen. 298
 — — —, Schädling von *Brassica nigra*. 298
 — — —, Schädling von Dahlia. 298
 — — —, Schädling von *Digitaria sanguinalis*. 298
 — — —, Schädling von Kohl. 298
 — — —, Schädling von Mais. 298
 — — —, Schädling von *Oxalis stricta*. 298
 — — —, Schädling von *Plantago maior*. 298
 — — —, Schädling von *Polygonum persicaria*. 298
 — — —, — — *Portulaca oleracea*. 298
 — — —, — — *Rumex crispus*. 298
 — — —, — — *Setaria glauca*. 298
 — — —, — — *Sorghum*. 298
 — — —, — — Stachelbeerstrauch. 298
 — *middletoni*, Schädling von *Aster subulatus*. 299
 — —, — — *Callistephus hortensis*. 299
 — —, — — *Cosmos bipinnatus*. 299
 — —, — — *Cynara scolymus*. 299
 — —, — — *Erigeron canadensis*. 299
 — —, — — *Erigeron ramosus*. 299
 — *papaveris*, Schädling von Rüben. 289
 — —, — vom Spargel. 327
 — *sonchi*, Schädling vom Lattich. 327
 — —, — — Salat. 327
Aposoeris phoetida, Schädigung durch *Aecidium aposoeridis*. 282
Aprostocetus diplosidis, natürlicher Feind von *Cantarina sorghicola*. 301
Arctia caja, Schädling vom Lattich. 327
 — —, — — Salat. 327
Areca rechingeriana, Schädling durch *Macrophoma palmarum*. 280
Areca rechingeriana, Vorkommen von *Hainnesia palmarum*. 280
 Arrakbereitung, Mykologie. 217
 Artischocke s. a. *Cynara scolymus*.
 —, Schädigung durch *Aphis maidiradicis*. 28
Arum, Schädigung durch *Cladosporium herbarum*. 277
Ascochyta hortorum, Schädling von *Solanum melongena*. 287
 — *vicina* var. *evonymella*, Schädling von *Evonymus japonica*. 277
Ascospora graminis, Schädling von *Poa abbreviata* in Grönland. 279
 — —, — — *glauca* in Grönland. 279
Asparagus officinalis s. a. Spargel.
 — —, Schädigung durch *Heterodera radicicola*. 277
 — —, — — *Rhizoctonia violacea*. 277
Aspergillus, Amylase, Unterschied von anderen Amylasen. 240
 — *fumigatus*, Vorkommen in Wurst. 243
 — *glaucus*, Vorkommen auf Drogen. 231
 — *niger*, Assimilation von Phosphorverbindungen. 231
 — —, Hexenringbildung, Wirkung der Temperatur. 371
 — —, Inulasegehalt. 232
 — —, Hexenringbildung, Wirkung der Transpiration. 366
 — —, Pigmentbildung. 230
 — —, Sporenbildung, Bedeutung des Eisens. 230
 — —, Stickstoffassimilationsvermögen fehlt. 260
 — *ochraceus*, Hexenringbildung, Wirkung von Alkali. 361
Aspidiotus nerii var. *ceratoniae*, Schädling von *Ceranton siliqua*. 277
Aster, Schädigung durch *Aphis maidiradicis*. 298
 — *subulatus*, Schädigung durch *Aphis middletoni*. 299
Asterina combreti, Schädling von *Combretum tivetense*. 279
Asterostomella africana, Schädling von *Tylachium africanum*. 279
Asti-spumante, Gärungsverzögerung durch Stickstoffentziehung. 247
Atriplex patula var. *hastata*, Infektion mit *Uromyces peckianus*. 284
Aureobasidium vitis var. *album*, Schädling vom Weinstock. 276
 Autobasidiomyceten der Mark Brandenburg. 285
Azolla caroliniana, Assimilation freien Stickstoffs. 257
Azotobacter, Kalibedürfnis. 411
 —, Wirkung auf Phosphorverbindungen im Boden. 502
 Azotogen, Herstellung. 266
 —, Impfung von Pferdebohnen. 269
Bacillus butyricus, Schwärzung von *Aesculin-Bouillon*. 182

- Bacillus coli*, Pathogenität einzelner Stämme. 281
 — —, Schädling von Kokospalmen. 281
 — *fluorescens liquefaciens*, Nitratreduktion, Kurve. 428
 — *lactis aërogenes*, Zersetzung von Fruktose. 232
 — — — — — Glukose. 232
 — — *niger*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 — *liodermos*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *luteus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *melanogenes*, Schädling von Kartoffeln. 316
 — *mesentericus*, Schleimigwerden von Brot. 243
 — —, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — — *ruber*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *mycoides*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 — —, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — — *radicosus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *oleae*, Schädling von *Olea europaea*. 277
 — *parvus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *petasites*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *prodigiosus*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 — *pyocyaneus*, Nitratreduktion, Kurve. 428
 — —, Wirkung auf Phosphorverbindungen im Boden. 516
 — *radicicola*, Wirkung auf Phosphorverbindungen im Boden. 502
 — *robur*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *ruminatus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *saccobranchi* n. sp., Kernstruktur. 229
 — *silvaticus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *simplex*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *solanacearum*, Schädling von Kartoffeln. 319
 — — — — — Tomaten. 319
 — *sorghii*, Schädling von Sorghum. 277
 — *sphaericus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *spirogyra*, Kernstruktur. 228
 — *subtilis*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 — —, Vorkommen in afrikanischem Käse. 251
 — — — — — im Mainwasser. 245
 — *teres*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *vulgatus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
Bacterium acidi lactici, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *alkaligenes*, Vorkommen im Mainwasser. 245
Bacterium anthocyaneum n. sp., Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *brunnificans*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *casei limburgensis*, Ammoniakbildung. 207
 — *chrysogloea*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *coli*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 — —, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — — *var. albido liquefaciens*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *cremoides*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *devorans*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *disciformans*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *ferrugineum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *fluorescens*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 183
 — —, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *fulvum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *helvolum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *lactericum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *lactis acidi*, Gärkraft einzelner Zellen. 193
 — — —, Gärung, verschiedene Phasen. 68
 — — —, Milchsäurebildung, Stundenleistung einer Zelle. 384
 — — *viscosi*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *luteum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *murisepticum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *ochraceum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *pneumoniae*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 — *punctatum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *putidum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *pseudotuberculosis rodentium*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *salmonicida*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *septicaemiae haemorrhagicae*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *turcosum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *violaceum*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *vulgare*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *xanthochlorum*, Erreger der Schwarzbeinigkeit von *Vicia faba*. 319
 — —, Schädling der Kartoffel. 319
 — — —, von *Lupinus nanus*. 319

- Bacterium zenkeri**, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — zopfii, Tropismen. 230
 — —, Vorkommen im Mainwasser. 245
Bacteroiden der Knöllchenbakterien, Untersuchung. 123
Bakterien, Bedeutung für Käsereifung. 205
 —, Boden-, Ammoniak- und Salpeter-Assimilation. 169
 —, —, Bedeutung. 198
 —, —, Schädigung durch Alkalisalze. 58
 —, —, Terminologie. 256
 —, —, Zählung in verschiedenen Monaten. 76
 —, —, Zunahme im Winter. 77
 —, denitrifizierende. 266
 —, —, Wirkung auf Farbstoffe. 431
 —, Kernnachweis. 224. 227
 —, Knöllchen-, Bacteroidenbildung. 123
 —, —, Isolierung und Reinkultur. 106
 —, —, Lebensfähigkeit in Reinkultur. 199
 —, —, Morphologie und Biologie. 97
 —, —, Unterscheidung verschiedener Arten mittels Serumdiagnose. 117
 —, Milchsäure-, Gärproben zur Unterscheidung. 195
 —, —, Vorkommen im Brauwasser. 180
 —, —, Wirkung niedriger Temperatur. 408
 —, Nitratreduktion, Wirkung von Natriumkarbonat. 423
 —, —, — Nitriten. 427
 —, —, — Zitronensäure. 423
 —, Nitrifikation. 258
 —, — in Kultur und im Boden. 253
 —, säure-labbildende, Bedeutung für die Käsereifung. 409
 —, —, Wachstum bei niedriger Temperatur. 408
 —, Schädlinge von Gurken. 329
 —, — — Kartoffeln. 290. 302. 316. 319
 —, — — Kohlrüben. 289
 —, — — Solanum lycopersicum. 276. 319
 —, — — Zuckerrüben. 302
 —, stickstoffbindende, Bedeutung. 262
 —, Verhalten unter natürlichen und experimentellen Bedingungen. 226
 —, Vermehrung in geometrischer Reihe. 379
 —, Vorkommen im alkoholischen Getränk aus Andropogon sorghum. 248
 —, — in gefrorenem Boden. 198
 —, — — Milch. 249
 —, — im Rohzucker. 251
 —, — — Wasser. 197. 245
 —, — in Wurst. 243
 —, Wirkung von Boden. 201
 —, Zählung, mikroskopische, Wert. 382
Bakterienflora des Wassers im New-Yorker Hafen. 197
Bakteriengehalt der Milch, Bedeutung mechanischer Einwirkung. 248
Bakteriologie, landwirtschaftliche, Praktikum. 222
Balaginus brassicae, Schädling vom Kohl. 327
Bambusa, Schädigung durch Puccinia amianthina. 279
Bananenblätter, Vorkommen von Radaisiella elegans. 278
Baridus chlorizans, Schädling vom Kohl. 327
 — cuprirostris, Schädling vom Kohl. 327
 — lepidi, Schädling vom Kohl. 327
Baumwollpflanzen, Schädigung durch Aphis maidi-radiceis. 298
Beta, Schädigung durch Uromyces betae. 277
Birnbaum s. a. *Pirus communis*.
 —, Schorfkrankheit. 343
 —, Vorkommen von Nectria ditissima. 540
Birnen, Pilzflora. 164
Blasenfüße s. a. *Thysanopteren*.
 —, Schädlinge von Hafer. 302
 —, — vom Roggen. 302
Blasenrost an Weymouthskiefer. 333
Blattfleckenkrankheit der Kartoffel. 327
Blattläuse, Bekämpfung mit Tabakextraktlösung. 309
 —, Fernhaltung durch Angewende von Wickefutter. 309
 —, Schädlinge von Zuckerrüben. 302
Blattrollkrankheit der Kartoffel. 290. 319
 — — —, Bekämpfung durch Bespritzung mit Kalisalzlösungen. 319
 — — — durch Fusarium. 315
 — — — — Trockenheit. 318
 — — — — Verticillium albo-atrum. 316
 — — —, Enzymtheorie, Prüfung. 321
 — — —, pilzfreie, infolge Phagocytose. 323
 — — —, Sammelreferat. 324
Blindwanze s. *Lygus campestris*.
Blutmehl, Zersetzung. 274
Boden, Ammoniakfestlegung, Wirkung von Calciumkarbonat. 169
 —, Ammoniakverdunstung und -umwandlung. 270
 —, Bakteriengehalt in verschiedenen Monaten. 76
 —, — im Winter. 198
 —, Beurteilung, Wert bakteriologischer Methoden. 209
 —, edaphische Organismen. 1
 —, Kalkbedürfnis. 263
 —, Phosphorverbindungen, Wirkung der Bakterien. 498
 —, Stickstoffumsetzung, Wirkung von kohlen-saurem Kalk. 261
 —, Vorkommen von Aphanomyces laevis. 305
 —, — — Phoma betae. 305
 —, — — Pythium de baryanum. 305
 —, Wasserkapazität, Wirkung von Kalk. 272
 —, Wirkung auf Bakterien. 201
Bodenkolloide, Wirkung von Kalk. 271
Bordeauxbrühe, Bekämpfungsmittel gegen Lophodermium pinastri. 331

- Bordeauxbrühe, Bekämpfungsmittel gegen
Septoria apii. 290
Botrytis, Amylase, Unterschied von andern
 Amylasen. 240
 — *cinerea*, Infektionsversuch mit Rüben-
 keimlingen. 304
 — —, Schädling vom Weinstock. 290
 — —, Wachstum bei verschiedenen Tem-
 peraturen. 161
 — *vulgaris*, Schädling von *Pelargonium*
zonatum. 276
Botys margaritalis, Schädling vom Kohl.
 327
 — —, — — Rettich. 327
 Brandpilze, Bekämpfung. 295
 — der Schweiz. 295
 —, Wandtafeln. 295
Brassica napus (?), Schädigung durch
Alternaria brassicae. 277
 — — —, — — *Phyllosticta napi*. 277
 — *nigra*, Schädigung durch *Aphis maidi-*
radicis. 298
 Brauwasser, biologische Untersuchung. 179
 —, Vorkommen von wilder Hefe. 180
 —, — — Milchsäurebakterien. 180
Bremia lactucae, Schädling von *Lactuca*
sativa. 277
Bromus sterilis, Schädigung durch *Puccinia*
bromina. 277
 Brot, Schleimigwerden durch *Bac. mesen-*
tericus. 243
Bruchus rufimanus, Schädling von *Vicia*
faba. 277
 Buche, Licht- und Schattenpflanzen. 339
 —, Schädigung durch *Geometra brumata*.
 340
 —, — — *Orchestes fagi*. 340
 Buchweizen, Schädigung durch *Hetero-*
sporium. 288
 —, — — *Peronospora*. 288
 Cadmiumchlorid, Wirkung auf Amylase. 252
Caeoma mercurialis, Schädling von *Mer-*
curialis perennis. 277
 — *pinitorquum*, Schädling der Kiefer. 332
Calandra granaria, Schädling vom Getreide.
 302
 — *oryzae*, Schädling von Reis. 302
 Calciumkarbonat, Wirkung auf Ammoniak-
 festlegung im Boden. 169
 Calciumnitrit, Düngewirkung bei Vege-
 tations- und Feldversuchen. 269
Caldesiella ferruginea, Vorkommen. 286
Callistephus hortensis, Schädigung durch
Aphis middletoni. 299
Calocampa exoleta, Schädling vom Spargel.
 327
Calodon hybridus, Vorkommen. 286
 Canna, Assimilation von freiem Stickstoff.
 258
Capnodium salicinum, Schädling von *Salix*.
 277
Capparis (?), Schädigung durch *Uredo*
scheffleri. 279
Caradrina quadripunctata, Vorkommen an
 Feldsalat. 328
Carex, Schädigung durch *Uromyces peri-*
gynius. 283
 —, *Uromyces*arten, Bestimmungstabelle.
 283
 — *debilis*, Schädigung durch *Uromyces*
uniporulus. 283
 — *deflexa*, Schädigung durch *Uromyces*
solidaginis-caricis. 283
 — *digitata*, *Puccinia* zu *Aecidium* auf
Ribes alpinum gehörend. 282
 — *flava*, Schädigung durch *Uromyces*
solidaginis-caricis. 283
 — *gracillima*, Schädigung durch *Uromyces*
solidaginis-caricis. 283
 — *lanuginosa*, Schädigung durch *Uro-*
myces solidaginis-caricis. 283
 — *muricata*, *Puccinia*, Infektion von *Cre-*
pis biennis. 282
 — *pubescens*, Schädigung durch *Uromyces*
solidaginis-caricis. 283
 — *pulla*, Schädigung durch *Hendersonia*
gigantea in Grönland. 279
 — *scoparia*, Schädigung durch *Uromyces*
caricina. 283
 — *triceps*, Schädigung durch *Uromyces*
minutus. 283
 — *utriculata*, Schädigung durch *Uro-*
myces valens. 283
Castanea vesca, Schädigung durch *Melan-*
conis perniciosus. 277
Castilloa elastica, Schädigung durch Heu-
 schrecken. 342
 — —, — — Käfer. 342
 — —, — — *Taeniotes suturalis*. 342
 — —, — — Taschenschildkröten. 342
 — —, — — Termiten. 342
Ceanothus americanus, Wurzelknöllchen.
 268
 — *velutinus*, Wurzelknöllchen. 268
Cecidomyia destructor, Schädling vom
 Weizen. 276
Cecidomyiden, Gallenbildung an *Ephedra*
fragilis. 468
 Cellulose, Zersetzung durch *Penicillium*. 252
Cephalothecium roseum, Hexenringbildung
 Wirkung der Temperatur. 371
 — —, — — Transpiration. 366
Ceratonia siliqua, Schädigung durch *Aspi-*
diotus nerii var. *ceratoniae*. 277
 — —, — — *Cercospora ceratoniae*. 277
 — —, — — *Oidium ceratoniae*. 277
Ceratostoma juniperinum, Schädling von
 Wacholder. 338
Cercospora beticola, Schädling von Zucker-
 rüben. 302. 310
 — *cerasella*, Schädling von *Prunus avium*.
 277
 — *ceratoniae*, Schädling von *Ceratonia*
siliqua. 277
 — *concors*, Schädling von Kartoffeln. 288
 — *microsora*, Schädling von *Tilia europaea*
 277

- Cercospora nerinella*, Schädling von *Nerium oleander*. 276
 — *nicotianae*, Schädling von *Nicotiana tabacum*. 276
Cereus nycticalus, Schädigung durch *Pestalozzia funerea*. 280
 — *triangularis*, Schädigung durch *Pestalozzia funerea*. 280
Ceroplastes rusci, Schädling von *Ficus carica*. 277
Ceutorhynchus assimilis, Schädling vom Kohl. 327
 — *boraginis*, Schädling vom Kohl. 327
 — — — *Rettich*. 327
Chaetocnema concinna, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
 — *tibialis*, Beschreibung. 309
Chalcoides plutus, Beschreibung. 309
Chamaedaphne calyculata, Schädigung durch *Melampsoropsis cassandrae*. 283
Chenopodium album, Infektion mit *Uromyces peckianus*. 284
Chilisalpeter, Düngewirkung bei Vegetations- und Feldversuchen. 269
Chionaspis evonymi, Schädling von *Evonymus japonica*. 276
Chlorita flavescens, Schädling von Zuckerrüben. 302
Chlorops taeniopus, Schädling von Getreide. 289
Chrysomyxa rhododendri, Schädling von *Abies pectinata*. 277
Chrysophlyctis endobiotica, Schädling von Kartoffeln. 288
Cicadula sexnotata, Schädling von Zuckerrüben. 302
Cidaria fluctuata, Schädling vom Kohl. 327
Cimex oleraceus, Schädling vom Kohl. 327
Cinnamomum camphora, Schädigung durch *Trioza camphorae*. 341
Citromyces, Hexenringbildung, Wirkung der Temperatur. 371
 —, Vorkommen in Wurst. 243
Citrus aurantium, Schädigung durch *Meliola penzigi*. 276
 — *limonum*, Schädigung durch *Gloeosporium hesperidearum*. 277
 — —, — — *Limacinia citri*. 277
 — —, — — *Penicillium glaucum*. 277
 — —, — — *Phyllosticta hesperidearum*. 277
 — —, — — *Phyllosticta platanoides*. 276
 — —, — — *Tricoseptoria alpeii*. 277
Cladosporium, Vorkommen in Wurst. 243
 — *fulvum*, Schädling von *Solanum lycopersicum*. 290
 — *herbarum*, Infektionsversuch mit Rübenkeimlingen. 304
 — —, Schädling von *Arum*. 277
 — —, — vom *Hafer*. 288
 — —, — vom *Lathyrus*. 277
 — —, — — *Mercurialis*. 277
 — —, — vom *Roggen*. 276
Cladosporium herbarum, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 161
 — *humifaciens*, Vorkommen im Boden. 2
 — *macrocarpum*, Wirkung von Tannin. 291
Clasterosporium amygdalearum, Schädling von *Prunus avium*. 276
 — —, — — *Prunus domestica*. 276
 — *carpopylum*, Beziehung zum Gummi-
 fluß der Obstbäume. 288
 — —, gleichzeitiges Auftreten mit *Exoascus deformans*. 288
 — —, Schädling von *Prunus persica*. 277
Clavariella corrugata, Vorkommen. 286
 — *crocea*, Vorkommen. 286
 — *gracilis*, Vorkommen. 286
Claviceps purpurea, Bedeutung der Überwinterung für die Keimfähigkeit der Sklerotien. 300
 — —, Schädling von *Hafer* in Amerika. 300
Clerodendron, Schädigung durch *Hemileia scholzii*. 279
Cnethocampa, Schädling von Eichen. 341
Colletotrichum gloeosporoides, Wirkung von Tannin. 291
 — *gossypium*, Wirkung von Tannin. 291
 — *lagenarium*, Wirkung von Tannin. 291
Combretum tivetense, Schädigung durch *Asterina combreti*. 279
Coniothyrium hellebori, Schädling von *Helleborus niger*. 287
 — *lesquerellae*, Schädling von *Lesquerella arctica* in Grönland. 279
Contarinia pyrivora, Schädling von *Pirus communis*. 276
 — *sorghicola*, *Aprostocetus diplosidis* natürlicher Feind. 301
 — —, *Tetrastichus* natürlicher Feind. 301
 — —, Schädling von *Setaria glauca*. 301
 — —, — — *Sieglia seslerioides*. 301
 — —, — — *Sorghum*. 301
Corticium chalybeum, Vorkommen. 286
 — *henningsii* n. sp., Vorkommen. 286
 — *lindavianum* n. sp., Vorkommen. 286
 — *microsporum*, Vorkommen. 286
 — *weisseanum*, Vorkommen. 286
Corynelia carpophila, Schädling von *Rapanea melanophloea*. 279
Corynespora melonis, Schädling von Gurken. 329
Cosmos bipinnatus, Schädigung durch *Aphis middletoni*. 299
Crataegus oxyacantha, Schädigung durch *Gymnosporangium clavariaeforme*. 276
Craterella terricola nov. gen. n. sp., Vorkommen im Boden. 2
Crepis biennis, Infektion mit *Puccinia* von *Carex muricata*. 282
Crioceris asparagi, Schädling vom Spargel. 302
 — *duodecimpunctata*, Schädling vom Spargel. 302
Cryptococcus glutinis, Vorkommen in afrikanischem Käse. 251

- Cucasa*-Schwefelpulver, Bekämpfungsmittel gegen Heu- und Sauerwurm. 290
Cucumis melo s. a. Melone. — —, Schädling von *Vicia faba*. 277
Cucurbita pepo, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
— —, Schädigung durch *Alternaria brassicae* f. *nigrescens*. 277
— —, — — *Alternaria tenuis*. 277
— —, — — *Phyllosticta cucurbitacearum*. 277
Cuscuta europaea, Auftreten an Zuckerrüben. 314
— *gronowii*, Auftreten an Zuckerrüben. 314
Cycas circinalis, Wurzelknöllchen. 268
— *seemanni*, Wurzelknöllchen. 268
Cydonia vulgaris, Schädigung durch *Monilia fructigena*. 277
Cynara scolymus s. a. Artischocke. — —, Schädigung durch *Aphis middletoni*. 299
Cynips caput-medusae, Schädling von *Quercus*. 277
Cyphella villosa var. *cycadearum*, Vorkommen. 286
Cystopteris fragilis, Schädigung durch *Pyrenophora filicina* in Grönland. 279
Cystopus candidus, gleichzeitiges Auftreten mit *Peronospora parasitica*. 288
— *tragopogonis*, Schädling von *Scorzonera hispanica*. 277
Cytidia cruenta, Vorkommen. 286
— *sacroides*, Vorkommen. 286
Cytosporina septospora n. sp., Schädling von *Pinus montana*. 333
Dänemark, Pflanzenkrankheiten 1910. 289
— — 1911. 288
Dahlia, Schädigung durch *Aphis maidi-radicis*. 298
Darlucula filum, Vorkommen auf *Puccinia bromina*. 277
— — — *Puccinia triseti*. 277
Dematophora necatrix, Schädling von Rosaceen. 277
— —, — vom Weinstock. 276
Denitrifikation, Wirkung von Natriumkarbonat. 423
— — — Nitriten. 427
— — — Zitronensäure. 423
Depressaria daucella, Schädling von Mohrrüben. 327
— *nervosa*, Schädling von Fenchel. 328
— —, — vom Kümmel. 328
— *purpurea*, Schädling von Mohrrüben. 327
Diäthylamin, Wirkung auf die Keimung von Samen. 594
Dianthus, Schädigung durch *Heterosporium echinulatum*. 277
Diaspis pentagona, Schädling von *Morus*. 276
Diffugia constricta, Vorkommen im Boden. 2
— *globulosa*, Vorkommen im Boden. 2
Diffugia pyriformis, Vorkommen im Boden. 2
— *urceolaris*, Vorkommen im Boden. 2
Digitaria sanguinalis, Schädigung durch *Aphis maidi-radicis*. 298
Dimerosporium apertum, Vorkommen auf *Meliola*. 279
Diplococcus gadidarum n. sp., Rotfärbung von Fischen. 193
Diplodia cacaoicola, Schädling von *Theobroma cacao*. 279
Diplosis humuli, Schädling von Hopfen. 330
Distichlis spicata, Schädigung durch *Uromyces peckianus*. 284
Dorylaimus sp., Vorkommen im Boden. 2
Dracaena, Schädigung durch *Loranthus sphaerocarpus*. 564
Drahtwürmer s. a. *Agriotes lineatus*. —, Schädlinge vom Kohl. 327
— — — Lattich. 327
— — — von Mohrrüben. 327
— — — vom Salat. 327
— — — von Zuckerrüben. 302
Drehwüchsigkeit der Kiefer. 332
Drogen, Vorkommen von *Aspergillus glaucus*. 231
Drosera, Enzym, Untersuchung. 239
Drosophila phalerata, Schädling von *Porree*. 328
— — — Zwiebeln. 328
Dryopteris acrostichoides, Schädigung durch *Exoascus filicinum* in Amerika. 292
Dürrfleckenkrankheit der Kartoffel. 315
Efeu s. a. *Hedera helix*. —, Vorkommen von d-Galaktose nach Frost. 239
Eiche, Knospenvariation durch Fraßbeschädigung. 341
—, Schädigung durch *Cnethocampa*. 341
— — — *Nectria galligena*. 343
— — — *Oidium ventricosum*. 341
Eichenmeltau, Überwinterung unter den Knospenschuppen. 341
—, Verbreitung in Frankreich. 288
Eisen, Bedeutung für die Sporenbildung von *Aspergillus niger*. 230
Eiweiß, Bildung in Pflanzen, neue Theorie. 532
Elaeagnus, Wurzelknöllchen. 268
Elaphomyces sapidus, Unterschied von *C. papillatus*. 279
Elymus europaeus, Schädigung durch *Puccinia actaeae-elymi*. 282
Encephalartos horridus, Wurzelknöllchen. 268
— *villosus*, Wurzelknöllchen. 268
Enchytraeus labifer, Schädling von Weizen. 290
Endophyllum euphorbiae silvaticae, Entwicklungsgeschichte. 154
— *sedi*, Beziehung zu *Puccinia longissima*. 282
— —, Schädling von *Sedum reflexum*. 282

- Endophyllum sempervivi*, Aecidienbildung. 145
 — —, Entwicklungsgeschichte. 139
 — —, Infektion von *Sempervivum tectorum*. 139
 — —, Sporenkeimung. 141
 Engerlinge, Schädlinge vom Kohl. 327
 — — — Lattich. 327
 — — — von Mohrrüben. 327
 — — — vom Salat. 327
Entyloma ranunculi, Schädling von *Ranunculus ficaria*. 277
 — *sparganii*, Vorkommen in Schweden. 278
 Enzyme, Hefe-, freie und an Protoplasma gebundene. 233
 —, Wirkung, physikalische Theorie. 234
 —, —, Reversibilität. 236
Ephedra fragilis, Gallenbildung durch *Cecidomyiden*. 468
 Erbse, Impfung mit Nitragin. 262
 —, Keimung, Wirkung von Ammoniak. 589
 Erdflöhe, Schädlinge von Zuckerrüben. 302
 Erdraupen, Schädlinge von Zuckerrüben. 302
Erigeron canadensis, Schädigung durch *Aphis middletoni*. 299
 — *ramosus*, Schädigung durch *Aphis middletoni*. 299
 Eriophyes, Gallenbildung an *Quercus ilex*. 470
 — — — *Quercus suber*. 471
 — *ilicis*, Gallenbildung an *Quercus ilex*. 470
 — — — *Quercus suber*. 470
 — *populi*, Gallenbildung an *Populus alba*. 469
 — *tiliae*, Schädling von *Tilia*. 276
 — *triradiatus*, Gallenbildung an *Salix babylonica*. 469
 Erle s. a. *Alnus*.
 —, Rotfärbung frischen Holzes, Untersuchung. 339
Euglypha alveolata, Vorkommen im Boden. 2
 — *globulosa*, Vorkommen im Boden. 2
Eumerus aeneus, Schädling von Porree. 328
 — — — Zwiebeln. 328
 — *strigata*, Schädling von Porree. 328
 — — — Zwiebeln. 328
Euphorbia, Schädigung durch *Uromyces scutellatus*. 277
 — *cyparissias*, Schädigung durch *Uromyces pisi*. 276
Eurotium, Ähnlichkeit mit *Pilula straminea*. 279
 —, Vorkommen in Wurst. 243
Eutypa caulivora, Vorkommen auf *Hevea brasiliensis*. 279
Evolvulus alsinoides, Schädigung durch *Puccinia desertorum*. 279
Evonymus europaea, Schädigung durch *Septoria evonymi*. 276
 — *japonica*, Schädigung durch *Ascochyta vicina* var. *evonymella*. 277
 — — — *Chionaspis evonymi*. 276
Evonymus japonica, Schädigung durch *Oidium evonymi japonicae*, Ausbreitung. 281
Exoascus deformans, gleichzeitiges Auftreten mit *Clasterosporium carpophilum*. 288
 — *filicinum*, Schädling von *Dryopteris acrostichoides* in Amerika. 292
 — *ostryae*, Schädling von *Ostrya carpinifolia*. 277
 — *pruni*, Schädling vom Pflaumenbaum. 343
 Fäulnispilze des Obstes, Wachstumsbedingungen und Verbreitung. 161
 Fangpflanzenmethode, Wert. 313
 Farbstoff, Wirkung von denitrifizierenden Bakterien. 431
 Fenchel, Schädigung durch *Aphis capreae*. 328
 — — — *Aphis foeniculi*. 328
 — — — *Depressaria nervosa*. 328
 Fermente, typische, Zugehörigkeit von Zymase. 238
 Fichte, Schädigung durch *Lophodermium macrosporum*. 337
 — — — Rauch. 331
Ficus carica, Schädigung durch *Ceroplastes rusci*. 277
 Fische, Rotfärbung durch *Diplococcus gadidarum*. 193
 Flachsörste, Untersuchung. 275
 Fleischmehl, Zersetzung. 274
Fomes scutellatus, Zugehörigkeit zu *Trametes ochroleuca*. 286
 Formaldehyd, Bedeutung für Nitrat- und Nitrit-Reduktion im Licht. 528
 — und Alkohol, Samensterilisation. 201
 Formalin, Bekämpfungsmittel gegen *Helminthosporium gramineum*. 289
 Forstgewächse, Düngungsversuche. 260
 —, Krankheiten in Österreich-Ungarn. 331
 Frankreich, Pflanzenkrankheiten 1910. 287
Fraxinus, Schädigung durch *Scolecotrichum fraxini*. 277
 Fruktose, Zersetzung durch *Bacillus lactis aërogenes*. 232
 Fusarien als Krankheitserreger. 285
 —, Bedeutung für die Fußkrankheit des Getreides. 294
Fusarium, Erreger der Blattrollkrankheit der Kartoffel. 315
 —, Schädling von Roggen in Dänemark. 288
 —, Stickstoffassimilationsvermögen fehlt. 260
 — *acuminatum*, Wirkung von Tannin. 291
 — *coeruleum*, Infektion von Kartoffelknollen. 315
 — —, Vorkommen an Kartoffelknollen. 326
 — *culmorum*, Wirkung von Tannin. 291
 — *dimerum*, Vorkommen an Kartoffeln. 326

- Fusarium discolor*, Infektion von Kartoffelknollen. 315
 — var. *sulphureum*, Vorkommen an Kartoffelknollen. 326
 — *lateritium*, Schädling von *Morus*. 276
 — *martii*, Vorkommen an Kartoffelknollen 326
 — *orthoceras*, Infektion von Kartoffelknollen. 315
 — *putrefaciens*, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 161
 — *solani*, Infektion von Kartoffelknollen. 315
 — —, Vorkommen an Kartoffelknollen. 326
 — —, Wirkung von Tannin. 291
 — *subulatum*, Infektion von Kartoffelknollen. 315
 — —, Vorkommen an Kartoffeln. 326
 — —, — in Kartoffelstengeln. 326
 — *willkommii*, Vorkommen am Apfelbaum. 540
 — —, — — Birnbaum. 540
 — —, — — Pfirsichbaum. 540
 — —, — an *Prunus triloba*. 540
 — —, — — Schattenmorelle. 540
Fusicladium, Parasitismus. 540
 — *amygdali* n. sp., Beziehung zu *F. cerasi* und *F. pruni*. 288
 — — — —, Schädling vom Mandelbaum. 288
 — *cerasi*, Beziehung zu *F. amygdali*. 288
 — *pirinum*, Schädling von *Pirus communis*. 276
 — *pruni*, Beziehung zu *F. amygdali*. 288
 Gärung von *Asti spumante*, Verzögerung durch Stickstoffentziehung. 247
 —, Bedeutung für die Praxis. 232
 —, Bildung flüchtiger Säure nach derselben. 481
 Gärprobe der Milch, Wert. 184. 192
 Gärung, Milchsäure-, verschiedene Phasen. 67
 —, Organismen, Einführung. 222
 Galaktase, Bedeutung für Käseife. 205
 Galaktose, d-, Vorkommen an Efeu nach Frost. 239
 Gallen durch *Andricus singulus* an *Quercus ilex*. 470
 — — *Cecidomyiden* an *Ephedra fragilis*. 468
 — — *Eriophyes* an *Quercus ilex*. 470
 — — — — *Quercus suber*. 471
 — — *Eriophyes ilicis* an *Quercus ilex*. 470
 — — — — *Quercus suber*. 470
 — — *Eriophyes populi* an *Populus alba*. 469
 — — *Eriophyes triradiatus* an *Salix babylonica*. 469
 — — *Pemphigus bursarius* an *Populus nigra*. 470
 — — *Pemphigus vesicarius* an *Populus nigra*. 470
Gardenia lanutoo, Vorkommen von *Hyaloderma gardeniae*. 280
 Gemüseule s. *Mamestra oleracea*.
Genista tinctoria, Schädigung durch *Phylloticta genistae*. 277
 Genußmittel, Mykologie. 243
Geococcus vulgaris nov. gen. n. sp., Vorkommen im Boden. 2
Geometra brumata, Schädling von Buchen. 340
Geranium phaeum, Schädigung durch *Uromyces carpathicus*. 282
 Gerste, Keimung, Wirkung von Ammoniak. 589
 —, —, — — Natronlauge. 589
 —, Schädigung durch *Helminthosporium gramineum*. 289
 —, — — *Helminthosporium teres*. 288. 289
 —, — — *Siphonophora cerealis*. 277
 —, — — *Typhula gramineum*. 288
 —, — — Zwergzikaden. 302
 Getreide, Fußkrankheit, Bedeutung der Fusarien. 294
 —, Keimreife, Wirkung verschiedener Gase. 292
 —, Keimungsgeschwindigkeit, Bedeutung der Keimreife. 293
 —, Rost, Verbreitung in Frankreich. 288
 —, Rostpilze in Südafrika. 297
 —, Schädigung durch *Agriotes lineatus*. 289
 —, — — *Calandra granaria*. 302
 —, — — *Cecidomyia destructor*. 276
 —, — — *Chlorops taeniopus*. 289
 —, — — *Cladosporium herbarum*. 276. 288
 —, — — *Claviceps purpurea*. 300
 —, — — *Enchytraeus labifer*. 290
 —, — — *Fusarium*. 288
 —, — — *Helminthosporium gramineum*. 289
 —, — — *Helminthosporium teres*. 288. 289
 —, — — *Hylemyia coarctata*. 289
 —, — — Kleinzirpen. 302
 —, — — *Leptosphaeria herpotrichoides*. 290
 —, — — *Oscinis frit*. 289
 —, — — *Puccinia graminis*. 276. 277
 —, — — Rübennematode. 302
 —, — — *Siphonophora cerealis*. 276. 277
 —, — — *Tarsonemus spirifex*. 301
 —, — — *Thrips secalina*. 276
 —, — — *Thysanopteren*. 302
 —, — — *Tilletia tritici*. 276
 —, — — *Tipula paludosa*. 289
 —, — — *Tylenchus tritici*. 277
 —, — — *Typhula graminum*. 288
 —, — — *Urocystis occulta*. 289
 —, — — Zwergzikade. 302
 Getreideblumenfliegen. *Hylemyia coarctata*.
Gloeosporium, Verbreitung durch *Anthracorisa*. 166
 —, — — Milben. 166

- Gloeosporium affine*, Identität mit *G. cinctum*. 280
 —, Schädling von *Hoya carnosa*. 277
 — *album*, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 161
 — *fructigenum*, Vergleich der amerikanischen und der europäischen Form. 462
 —, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 161
 — *hesperidearum*, Schädling von *Citrus limonum*. 277
 — *theae*, Schädling von *Thea viridis*. 276
 — *vandopsisidis*, n. sp., Vorkommen auf Orchideen. 280
 — *vanillae*, Identität mit *G. cinctum*. 280
 Glukose, Vergärung durch Hefe. 233
 —, Zersetzung durch *Bacillus lactis aërogenes*. 232
 Gräser, Samensterilisation mit Alkohol und Formaldehyd. 201
Grapholita conterminata, Schädling vom Lattich. 327
 —, — — Salat. 327
 Grönland, Pilzflora, Beiträge. 278
 Gründung, Wirkung von Strohzugabe. 274
 Gurke, Schädigung durch Bakterien. 329
 —, — — *Corynespora melonis*. 329
 —, — — Trockenheit. 329
Gymnosporangium clavariaeforme, Schädling von *Crataegus oxyacantha*. 276
Gynopogon scandens, Vorkommen von *Zukalia gynopogonis*. 280
Hadena baselinea, Biologie. 294
Haematommatis elatinus, Schädigung durch *Lichenophoma haematommatis*. 292
 Hafer, Schädigung durch Blasenfüße. 302
 —, — — *Cladosporium herbarum*. 288
 —, — — *Claviceps purpurea* in Amerika. 300
 —, — — *Leptosphaeria herpotrichoides*. 290
 —, — — Rübennematode. 302
 —, — — *Siphonophora cerealis*. 277
 —, — — *Tarsonemus spirifex*. 301
 —, — — Zwergzikaden. 302
Hainesia palmarum n. sp., Vorkommen auf *Areca rechingeriana*. 280
Haltica nemorum, Schädling von Kohlrüben. 290
 — *oleracea*, Beschreibung. 309
 Hanf, Keimung, Wirkung von Ammoniak. 589
 —, Tauröstung durch *Cladosporium*. 276
 Hanfröste, Untersuchung. 275
Hantzschia amphioxys, Vorkommen im Boden. 2
Hedera helix s. a. Efeu.
 —, Schädigung durch *Vermicularia trichella*. 276
 Hefe, Bildung flüchtiger Säure. 481
 —, Cytologie. 233
 Hefe, Enzyme, freie und an Protoplasma gebundene. 233
 —, Vergärung von Glukose. 233
 —, Vergärung von Maltose. 233
 —, Vorkommen im alkoholischen Getränk aus *Andropogon sorghum*. 248
 —, wilde, Vorkommen im Brauwasser. 180
 Hefengummi, Darstellung. 234
 Heißwasser, Bekämpfungsmittel gegen *Helminthosporium teres*. 289
 —, — — Schneeschimmel. 294
Heliodines roesella, Schädling von Spinat. 328
Helleborus niger, Schädigung durch *Coniothyrium hellebori*. 287
Helminthascus, Beziehung zu *Oomyces*. 280
Helminthosporium, Schädling von *Nerium*. 277
 — *gramineum*, Bekämpfung mit Formalin. 289
 — —, Schädling von Gerste. 289
 — *teres*, Bekämpfung mit Heißwasser. 289
 — —, Schädling von Gerste. 288. 289
Hemileia, Einteilung der Gattung. 280
 — *helvola*, Schädling von Rubiaceen. 279
 — *scholzii*, Schädling von *Clerodendron*. 279
Hendersonia gigantea, Schädling von *Carex pulla* in Grönland. 279
 Herzfäule der Zuckerrübe. 302
 — — —, Auftreten in Frankreich. 288
 Herz- und Trockenfäule der Zuckerrübe, Bedeutung der Bodenbearbeitung. 307
 — — — —, Geschichte. 306
Heterodera radicola, Schädling von *Asparagus officinalis*. 277
 — *schachtii*, Bekämpfung durch Boden-erhitzung. 313
 — —, — mit der Fangpflanzenmethode. 313
 — —, Biologie. 311
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 311
Heterosporium, Schädling von Buchweizen. 288
 — *echinulatum*, Schädling von *Dianthus*. 277
 — *variabile*, Morphologie. 46
 — —, Physiologie. 49
 — —, Schädling vom Spinat. 40
 Heuschrecken, Schädlinge von *Castilleja elastica*. 342
 Heu- und Sauerwurm, Bekämpfung mit Cucasa-Schwefelpulver. 290
 — — —, — — *Laurina*. 290
Hevea brasiliensis, Krebs. 342
 — —, Schädigung durch *Phytophthora faberi*. 342
 — —, Vorkommen von *Eutypa caulivora*. 279
 — —, — — *Nectria diversispora*. 342
 — —, — — *Stilbella heveae*. 342
 Hexenringbildung. 287. 290
 Hexosephosphorsäure, Zusammensetzung. 234

- Hopfen, Schädigung durch *Diplosis humuli*. 330
 —, — — *Hydroecia micacea*. 330
 Hormodendron, Vorkommen in Wurst. 243
 Hornmehl, Zersetzung. 274
 Hoya carnosa, Schädigung durch *Gloeosporium affine*. 277
 Humuskolloide, Wirkung von Kalk. 272
 Hyalodema, Identität mit *Coniodictyum*. 278
 Hyaloderma afzeliae, n. sp., Schädling von *Afzelia bijuga*. 280
 — gardeniae n. sp., Schädling von *Meliola*. 280
 — — — —, Vorkommen auf *Gardenia lanutoo*. 280
 Hydnium henningsianum n. sp. Vorkommen 286
 Hydroecia micacea, Schädling von Hopfen. 330
 Hylemyia coarctata, Schädling von Getreide. 289
 — —, Vorkommen auf Raygras. 294
 Hylesinus minor, Schädling der Kiefer. 332
 — piniperda, Schädling der Kiefer. 332
 Hypcholoma talbotiae, Vorkommen. 279
 Hypochnus solani, Beziehung zu *Rhizoctonia solani*. 316
 Hypocrea rufa, Hexenringbildung, Wirkung von Alkali. 361
 — —, — — der Transpiration. 366
 Hysterium angustatum, Vorkommen auf *Acacia koa*. 280
 Invertin, Wirkung, Hemmung durch Kohle. 238
 —, — von Wasserstoffionen. 239
 Ipomoea bipinnatifida, Schädigung durch *Uromyces comptus*. 279
 Isocystis n. sp., Vorkommen im Boden. 2
 Käfer, Schädlinge von *Castilleja elastica*. 342
 Käse, afrikanischer, Vorkommen von Schimmelpilzen. 251
 —, Aufbewahrung bei niedrigen Temperaturen. 250
 —, Edamer, dicke Rindenbildung. 25
 —, Fehler. 7
 —, kurzer, Ursache und Wesen. 22
 —, Reifung, Bedeutung der Bakterien. 205
 —, —, — von Galaktase. 205
 —, —, — des Lab. 204
 —, —, — der säure-labbildenden Bakterien. 409
 —, —, Milchsäurebindung durch Kasein. 12
 —, —, Sammelreferat. 202
 —, Tilsiter-, Reifung, Bedeutung von *Micrococcus casei liquefaciens*. 206
 Kaffein, Wirkung auf die Keimung von Samen. 594
 Kalilauge, Wirkung auf die Keimung von Samen. 540
 Kalisalzlösung, Bekämpfungsmittel gegen Blattrollkrankheit der Kartoffel. 319
 Kalk, Düngung, Verhältnis zur Magnesiadüngung. 265
 —, kohlensaurer, Wirkung auf Stickstoffumsetzung im Boden. 261
 —, Wirkung auf Bodenkolloide. 271
 —, — — Humuskolloide. 272
 —, — — die Wasserkapazität des Bodens. 272
 Kalkfaktor, Hypothese, Prüfung. 265
 Kalksalpeter, Wert als Düngemittel. 269
 Kalkstickstoff, Wert als Düngemittel. 269
 Kartoffel, Blattfleckenkrankheit. 327
 —, Blattrollkrankheit. 290. 319
 —, —, Bekämpfung durch Bespritzen mit Kalisalzlösungen. 319
 —, —, Enzymtheorie, Prüfung. 321
 —, — durch *Fusarium*. 315
 —, — durch Trockenheit. 318
 —, — — *Verticillium alboatrum*. 316
 —, —, pilzfreie infolge Phagocytose. 323
 —, —, Sammelreferat. 324
 —, Dürffleckenkrankheit. 315
 —, Infektion der Knollen mit *Fusarium coeruleum*. 315
 —, — — — — discolor. 315
 —, — — — — orthoceras. 315
 —, — — — — solani. 315
 —, — — — — subulatum. 315
 —, Infektion der Knolle mit *Verticillium alboatrum*. 315
 —, Knolle, Oxygenaseschalt. 321
 —, Knolle, Peroxydasegehalt. 321
 —, —, Tyrosinasegehalt. 321
 —, Krankheiten, Bedeutung des Bodens. 317
 —, —, — der Witterung. 317
 —, — und Erntestatistik. 325
 —, Phytophthoraafäule in Frankreich. 288
 —, Schädigung durch *Alternaria solani*. 315
 —, — — *Bacillus melanogenes*. 316
 —, — — — solanacearum. 319
 —, — — *Bacterium xanthochlorum*. 319
 —, — — Bakterien. 290. 302. 316. 319
 —, — — *Cercospora concors*. 288
 —, — — *Chrysophlyctis endobiotica*. 288
 —, — — *Spongopora subterranea*. 316
 —, Schwarzbeinigkeit durch Insektenfraß. 326
 —, Vergrößerung der Mutterknollen. 321
 —, Vorkommen von *Fusarium coeruleum* an den Knollen. 326
 —, — — — dimerum. 326
 —, — — — discolor var. sulphureum in den Knollen. 326
 —, — — — martii an den Knollen. 326
 —, — — solani an den Knollen. 326
 —, — — — subulatum. 326
 —, — — — an den Stengeln. 326
 —, — — *Verticillium alboatrum* in den Stengeln. 326
 Kartoffelkrebs, Auftreten in Frankreich. 283

- Katalasegehalt der Milch. 241
 Katalaseprobe der Milch, Wert. 183. 187
 Katalog, internationaler für Botanik. 222
 Kiefer, Drehwüchsigkeit. 332
 —, Kernholzbildung. 338
 —, Kienzopf. 332
 —, Regenerationerscheinungen. 332
 —, Schädigung durch *Caeoma pinitorquum*. 332
 —, — — *Hylesinus minor*. 332
 —, — — *Hylesinus piniperda*. 332
 —, — — *Lophodermium pinastri*. 331
 —, — — *Peridermium cornui*. 332
 —, Schütte, Empfänglichkeit verschiedener Sorten. 335
 Kienzopf der Kiefer. 332
 Kirschbaum, Anfälligkeit verschiedener Sorten gegen *Sclerotinia cinerea*. 284
 Klee s. a, *Trifolium*.
 —, Krankheiten. 277
 —, Schädigung durch *Sclerotinia trifoliorum* in Amerika. 289
 Kleinzirpen, Schädlinge vom Weizen. 302
 —, — von Zuckerrüben. 302
 Kneiffia aegerita, Vorkommen. 286
 — byssoides, Vorkommen. 286
 — lycii, Vorkommen. 286
 — molleriana, Vorkommen. 286
 — nuda, Vorkommen. 286
 Knochenmehl, Zersetzung. 274
 Knöllchenbakterien s. Bakterien, Knöllchen-
 Koeleria cristata, Schädigung durch *Puccinia longissima*. 282
 — valesiaca, Schädigung durch *Puccinia longissima*. 282
 Kohl, Schädigung durch *Agrotis pronuba*. 327
 —, — — *Agrotis segetum*. 327
 —, — — *Alucita mictodactyla*. 327
 —, — — *Anthomyia trimaculata*. 327
 —, — — *Aphis brassicae*. 327
 —, — — *Aphis maidi-radici*. 298
 —, — — *Balaginus brassicae*. 327
 —, — — *Baridus chlorizans*. 327
 —, — — *Baridus cuprirostris*. 327
 —, — — *Baridus lepidi*. 327
 —, — — *Botys margaritalis*. 327
 —, — — *Ceutorhynchus assimilis*. 327
 —, — — *Ceutorhynchus boragis*. 327
 —, — — *Cidaria fluctuata*. 327
 —, — — *Cimex oleraceus*. 327
 —, — — Drahtwürmer. 327
 —, — — Engerlinge. 327
 —, — — *Lasiops occulta*. 327
 —, — — *Mamestra brassicae*. 327
 —, — — *Mamestra oleracea*. 327
 —, — — *Notiphila flaveola*. 327
 —, — — *Pieris brassicae*. 327
 —, — — *Pieris napi*. 327
 —, — — *Pieris rapae*. 327
 —, — — *Plusia gamma*. 327
 —, — — *Plutella cruciferarum*. 327
 —, — — *Tipula oleracea*. 327
 Kohle, Hemmung der Invertinwirkung. 238
 Kohleule s. *Mamestra brassicae*.
 Kohlrübe, Schädigung durch *Anthomyia brassicae*. 290
 —, — — Bakterien. 289
 —, — — *Haltica nemorum*. 290
 —, — — *Plasmodiophora brassicae*. 289
 Kohlweißling s. *Pieris brassicae*.
 Kokospalme, Schädigung durch *Bacillus coli*. 281
 Kornkäfer s. *Calandra granaria*.
 Krebs an *Hevea brasiliensis*. 342
 Kresse, Keimung, Wirkung basischer Stoffe 588
 Kümmel, Schädigung durch *Aphis caprae*. 328
 —, — — *Aphis foeniculi*. 328
 —, — — *Depressaria nervosa*. 328
 Kupfervitriol, Bekämpfungsmittel gegen Schneeschimmel. 294
 —, — — *Spongopora subterranea*. 316
 Lab, Bedeutung für Käsereifung. 204
 Labkugeln, Bereitung. 237
 Labzymogen des Kalbsmagens. 236
Lactuca sativa s. a. Salat.
 —, —, Schädigung durch *Bremia lactucae*. 277
 —, — — *Marsonia panattoniana*. 276
Lamium, Schädigung durch *Oidium erysi- phoides*. 277
Lantana (citrifolia?), Schädigung durch *Puccinia schimperiana*. 279
Lasiops occulta, Schädling vom Kohl. 327
Lathyrus, Schädigung durch *Cladosporium herbarum*. 277
 — *tingitanus*, Wurzelknöllchen. 268
 Lattich, Schädigung durch *Agrotis exclamationis*. 327
 —, — — *Anthomyia lactucarum*. 327
 —, — — *Aphis lactucae*. 327
 —, — — *Aphis sonchi*. 327
 —, — — *Arctia caja*. 327
 —, — — Drahtwürmer. 327
 —, — — Engerlinge. 327
 —, — — *Grapholita conterminata*. 327
 —, — — *Trypeta amoena*. 327
 Laurina, Bekämpfungsmittel gegen Heu- und Sauerwurm. 290
Ledum grönlandicum, Schädigung durch *Melampsoropsis abietina*. 283
 Leguminosen, Impfung, Wert des Nitragin. 449
 —, Knöllchenbakterien, Morphologie und Biologie. 97
 —, —, Unterscheidung verschiedener Arten mittels Serumdiagnose. 117
 —, Wurzelrückstände, Stickstoffgehalt. 262
Lema asparagi, Schädling vom Spargel. 327
 — *campestris*, Schädling vom Spargel. 327
Lema 5 punctata, Schädling vom Spargel. 327
 — 12 punctata, Schädling vom Spargel. 327
 — 14 punctata, Schädling vom Spargel. 327

- Lemna major*, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
 — *minor*, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
Lentinus egregius, Unterschied von *L. velutinus*. 279
 — *velutinus*, Unterschied von *L. egregius*. 279
Lenzites adusta, Beziehung zu *L. beckleri*. 279
 — *beckleri*, Beziehungen zu *L. adusta*. 279
Lepargyrea canadensis, Wurzelknöllchen. 268
Leptosphaeria herpotrichoides, Schädling von Hafer. 290
 — *salicinarum*, Schädling von *Populus canadensis*. 277
Lesquerella arctica, Schädigung durch *Coniothyrium lesquerellae* in Grönland. 279
Leukozytenprobe der Milch, Wert. 183. 187
Lichenophoma haematommatis n. gen. et n. sp., Schädling von *Haematommatis elatinus*. 292
Limacina citri, Schädling von *Citrus limonum*. 277
Linum catharticum, Schädigung durch *Melampsora lini*. 278
 — *usitatissimum*, Schädigung durch *Melampsora liniperda*. 278
Liparis salicis, Schädling der Pappel. 339
Lipase, Untersuchung. 241
Longitarsus longipennis, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
 — *ochroleucus*, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
 — *tabidus*, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
Lophodermium macrosporum, Schädling der Fichte. 337
 — *pinastri*, Bekämpfung mit Bordeauxbrühe. 331
 — —, Monographie. 336
 — —, Schädling der Kiefer. 331
Loranthus sphaerocarpus, Haustorium, Anatomie. 570
 — —, Schädling von *Dracaena*. 564
Lotus corniculatus, Schädigung durch *Uromyces striatus*. 277
 Luft, Bedeutung für Bildung flüchtiger Säure durch Hefe. 481
 —, Pilzsporengehalt im Obstgarten und -keller. 164
Lupine, Impfung mit Nitragin. 262
Lupinus, Wurzelknöllchen. 268
 — *nanus*, Schädigung durch *Bacterium xanthochlorum*. 319
Lygus campestris, Schädling von Zuckerrüben. 302
Macrophoma flaccida, Schädling vom Weinstock. 276
 — *palmarum*, Schädling von *Areca rechin-geriana*. 280
Macrosporium, Schädling von *Populus canadensis*. 277
 — *commune*, Schädling von *Vicia faba*. 277
Maerua, Schädigung durch *Uredo scheffleri*. 279
Magnolia, Schädigung durch *Phyllosticta magnoliae*. 277
Mais s. a. *Zea mays*.
 —, Monstrosität. 299
 —, Schädigung durch *Aphis maidi-radici*. 298
 —, — — *Ustilago maydis*. 302
Maltose, Vergärung durch Hefe. 233
Mamestra, Schädling von *Petersilie*. 328
 —, — — *Sellerie*. 328
 — *brassicae*, Schädling vom Kohl. 327
 — *oleracea*, Schädling vom Kohl. 327
 — —, — — *Spargel*. 327
 — *persicariae*, Schädling von Mohrrüben. 327
 — *pisi*, Schädling vom Spargel. 327
Mandelbaum, Schädigung durch *Fusicladium amygdali*. 288
Mangandioxyd, Wirkung auf Weizenkeimung. 237
Marasmius cubensis, Beziehung zu *M. sordidus*. 279
 — *oreades*, Hexenringbildung, Ursache. 287
 — *sordidus*, Beziehung zu *M. cubensis*. 279
Marsonia panattoniana, Schädling von *Lactuca sativa*. 276
Medicago, Wurzelknöllchen. 268
 — *sativa*, Schädigung durch *Sporonema phacidioides*. 277
Melampsora lini, Schädling von *Linum catharticum*. 278
 — *liniperda* n. sp., Schädling von *Linum usitatissimum*. 278
Melampsoropsis abietina, Beziehung zu *Peridermium abietinum*. 283
 — —, Infektion von *Picea rubra*. 283
 — —, Schädling von *Ledum grönlandicum*. 283
 — *cassandrae*, Beziehung zu *Peridermium consimile*. 283
 — —, Infektion von *Picea rubra*. 283
 — —, Schädling von *Chamaedaphne calyculata*. 283
 — *ledicola*, Beziehung zu *Peridermium decolorans*. 283
 — *pyrolae*, Beziehung zu *Peridermium conorum-piceae*. 283
Melanconis perniciosa, Schädling von *Castanea vesca*. 277
Melandryum album, Schädigung durch *Ustilago antherarum*. 297
Meliola, Schädigung durch *Hyaloderma gardeniae*. 280
 —, Schädling von *Rhynchospora*. 279
 —, Vorkommen von *Dimerosporium apertum*. 279
 — *andromedae*, Schädling von *Spirae-anthemum*. 280
 — *bicornis*, Identität mit *M. bifida*. 280

- Meliola penicilliformis*, Schädling von *Psychotria geminodens*. 281
 — — — *Psychotria samoana*. 281
 — penzigi, Schädling von *Citrus aurantium*. 276
Melkeimer, Bedeutung für die Infektion der Milch. 195
Melone s. a. *Cucumis melo*.
 —, Schädigung durch *Trichothecium roseum*. 330
Mercurialis, Schädigung durch *Cladosporium herbarum*. 277
 — *perennis*, Schädigung durch *Caeoma mercurialis*. 277
Mesotaenium caldariorum, Vorkommen im Boden. 2
Methylalkohol, Bedeutung für Nitrat- und Nitrit-Reduktion im Licht. 528
Micrococcus aurantiacus, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *badius*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *butyricus*, Kernnachweis. 224
 — *candicans*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *casei liquefaciens*, Bedeutung für Reifung von Tilsiter Käse. 206
 — *cerasinus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *concentricus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *corallioides*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *coronatus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *flavus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *luteus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *prodigiosus*, Vorkommen in afrikanischem Käse. 251
 — *pyogenes albus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — — *aureus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *radiatus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *rosettaceus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *roseus*, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 — —, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *sulfureus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — *viticulosus*, Vorkommen im Mainwasser. 245
Milben, Verbreitung von *Gloeosporium*. 166
Milch, Alkoholprobe, Wert. 184
 —, Bakterienflora. 195
 —, Bakteriengehalt, Bedeutung mechanischer Einwirkung. 248
 —, Fehler durch *Pseudomonas fragaroidea*. 230
 —, Gärprobe, Wert. 184. 192
 —, Infektion während des Melkens. 195
 —, Katalasegehalt. 241
 —, Katalaseprobe, Wert. 183. 187
Milch, Keimgehalt, Bestimmung. 182
 —, Keimzählung, Wert für die Kontrolle. 196
 —, Kuh-, Körperzellen, Bestimmung. 196
 —, Leukozytenprobe, Wert. 183. 187
 —, Neutralisationsvermögen der durch Lab gefällten Bestandteile. 26
 —, Peroxydase. 250
 —, Reduktionsprobe, Wert. 184
 —, Untersuchung, Vergleich der bakteriologischen und biochemischen Methoden. 181
 —, Vorkommen von Ammoniak. 248
 — — — Streptokokken. 249
 — — — Tuberkelbazillen. 249
Milchsäure, Bildung durch *Bacterium lactis acidum*, Stundenleistung einer Zelle. 384
 —, Bindung durch Kasein bei Käsebereitung. 12
Milchsäurebakterien s. Bakterien, Milchsäure-
Milchsäuregärung s. Gärung, Milchsäure-
Milchversorgung großer Städte. 249
Mohrrübe, Schädigung durch *Acherontia atropos*. 327
 — — — *Agrotis pronuba*. 327
 — — — *Aphis carotae*. 327
 — — — *Depressaria daucella*. 327
 — — — *Depressaria purpurea*. 327
 — — — Drahtwürmer. 327
 — — — Engerlinge. 327
 — — — *Mamestra persicariae*. 327
 — — — *Papilio machaon*. 327
 — — — *Psila rosae*. 327
 — — — *Spinx celerio*. 327
 — — — *Thrips vulgatissima*. 327
Molliardia, Zugehörigkeit von *Tetramyxa triglochis*. 328
Monascus barkeri, Vorkommen auf eingemachtem Obst. 232
Monilia candida, Verhalten gegen organische Säuren. 224
 — *fructigena*, Schädling von *Cydonia vulgaris*. 277
 — — — *Pirus malus*. 276
 — —, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 161
Morus, Schädigung durch *Diaspis pentagona*. 276
 — — — *Fusarium lateritium*. 276
Most, geschwefelter, Reinhefezusatz. 248
Mucor, Amylase, Unterschied von anderen Amylasen. 240
 — *corymbifer*, Aerotropismus, Bedeutung des Nährbodens. 230
 — *mucedo*, Aerotropismus, Bedeutung des Nährbodens. 230
 — *piriformis*, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 161
 — *racemosus*, Aerotropismus, Bedeutung des Nährbodens. 230
 — —, Vorkommen in afrikanischem Käse. 251

- Mucor rouxii*, Vorkommen im alkoholischen Getränk aus *Andropogon sorghum*. 248
 — *spinosus*, Aerotropismus, Bedeutung des Nährbodens. 230
Muscari botryoides, Immunität gegen *Uromyces scillarum*. 452
 — *comosum*, Immunität gegen *Uromyces scillarum*. 452
 — *racemosum*, Schädigung durch *Uromyces scillarum*. 452
Mycoderma cerevisiae, Verhalten gegen Säuren. 224
Mycoplasmatheorie, Untersuchung. 294
Mykologie der Genußmittel. 243
 —, Handbuch der technischen. 217
 — der Nahrungsmittelgewerbe. 242
Myxomyceten, Unterschied von *Plasmodiophoraceen*. 329

 Nahrungsmittelgewerbe, Mykologie. 242
Narcissus pseudonarcissus, Infektion mit *Puccinia schroeteri*. 452
 — *radiiflorus*, Schädigung durch *Puccinia schroeteri*. 452
Natriumkarbonat, Wirkung auf die Nitratreduktion. 423
Natriumsalze, Wirkung auf Bodenbakterien. 59
Natronlauge, Wirkung auf die Keimung von Samen. 589
Navicula atoma, Vorkommen im Boden. 2
 — *borealis*, Vorkommen im Boden. 2
 — *nodosa*, Vorkommen im Boden. 2
 — *sima*, Vorkommen im Boden. 2
Nebela collaris, Vorkommen im Boden. 2
Nectria, Parasitismus. 540
 — *ditissima*, Verwechslung mit *N. galligena*. 343
 — —, Vorkommen am Apfelbaum. 540
 — —, — — Birnbaum. 540
 — —, — — Pfirsichbaum. 540
 — —, — an *Prunus triloba*. 540
 — —, — — Schattenmorelle. 540
 — *diversispora*, Vorkommen auf *Hevea brasiliensis*. 342
 — *galligena*, Schädling von Eschen. 343
 — —, — — *Salix purpurea*. 343
 — —, Verwechslung mit *N. ditissima*. 343
 — *theobromicola*, Schädling von *Theobroma cacao*. 279
Nerium, Schädigung durch *Helminthosporium*. 277
 — *oleander*, Schädigung durch *Cercospora nerinella*. 276
 New-York, Pflanzenkrankheiten. 287
Nicotiana tabacum, Schädigung durch *Cercospora nicotianae*. 276
Nikotin, Wirkung auf die Keimung von Samen. 595
Nitragin, Impfversuche. 260. 262
 —, Wert. 449
 Nitratassimilation der Pflanzen. 520
 Nitrate, Reduktion durch Licht bei Gegenwart von Formaldehyd. 528
 Nitrate, Reduktion durch Licht bei Gegenwart von Methylalkohol. 528
 Nitride, Wirkung auf Pflanzen. 268
 Nitrit, Düngewirkung bei Vegetations- und Feldversuchen. 269
 Nitritassimilation der Pflanzen. 520
 Nitrite, Reduktion durch Licht bei Gegenwart von Formaldehyd. 528
 —, — — — — — Methylalkohol. 528
Nitzschia sp., Vorkommen im Boden. 2
 Norgesalpeter, Düngewirkung bei Vegetations- und Feldversuchen. 269
Nortiphila flaveola, Schädling vom Kohl. 327

 Obst, Bedeutung der Lagerreife für die Fäulnis. 163
 —, eingemachtes, Vorkommen von *Monascus barkeri*. 232
 —, Fäulnispilze, Wachstumsbedingungen und Verbreitung. 161
 Obstbäume, Gummifluß, Bedeutung von *Clasterosporium carpophilum*. 288
 —, Schädigung durch *Anthonomus piri*. 277
 —, — — *Anthonomus pomorum*. 343
 —, — — *Cercospora cerasella*. 277
 —, — — *Clasterosporium amygdalearum*. 276
 —, — — *Clasterosporium carpophilum*. 277
 —, — — *Contarinia pirivora*. 276
 —, — — *Fusicladium pirinum*. 276
 —, — — *Monilia fructigena*. 276
 —, — — *Phyllosticta prunicola*. 277
 —, — — *Puccinia cerasi*. 277
 —, — — *Rhynchites*. 343
 —, — — *Septoria piricola*. 276
 —, — — *Sphaerotheca pannosa*. 277
 —, Schorfkrankheit. 343
 —, Vorkommen von *Nectria ditissima*. 540
Oedogonium, Assimilation freien Stickstoffs. 257
Oidium ceratoniae, Schädling von *Ceratonia siliqua*. 277
 — *erysiphoides*, Schädling von *Lamium*. 277
 — *evonymi japonicae*, Schädling von *Evonymus japonica*, Ausbreitung. 281
 — *lactis*, Verhalten gegen organische Säuren. 224
 — —, Vorkommen in afrikanischem Käse. 251
 — *quercinum*, Auftreten. 277
 — —, Ausbreitung. 281
 — *tuckeri*, Ausbreitung. 281
 — *ventricosum*, Schädling von Eichen. 341
Olea europaea, Schädigung durch *Antennaria elaeophila*. 276
 — —, — — *Bacillus oleae*. 277
Oomyces, Beziehung zu *Helminthascus*. 280
Orchestes fagi, Schädling von Buchen. 340
 Orchidee, Vorkommen von *Gloeosporium vandopsidis*. 280
Oscillatoria sp., Vorkommen im Boden. 2

- Oscinis* frit, Schädling von Getreide. 289
Ostrya carpinifolia, Schädigung durch *Exoascus ostryae*. 277
Oxalis stricta, Schädigung durch *Aphis maidi-radici*s. 298
 Oxalsäure, fermentative Oxydation. 238
 Oxydationsfermente, Bedeutung für die Pflanzenatmung. 237
 Oxygenasegehalt von Kartoffelknollen. 321

Pachyma cocos in Tirol. 281
 Pankreaslipase, Untersuchung. 241
Papilio machaon, Schädling von Mohrrüben. 327
Pappel s. a. Populus.
 —, Schädigung durch *Liparis salicis*. 339
 Paradiesapfel s. *Solanum lycopersicum*.
Pelargonium zonatum, Schädigung durch *Botrytis vulgaris*. 276
Pemphigus bursarius, Gallenbildung an *Populus nigra*. 470
 — *vesicarius*, Gallenbildung an *Populus nigra*. 470
Penicillium, Amylase, Unterschied von anderen Amylasen. 240
 —, Hexenringbildung, Wirkung der Transpiration. 366
 —, Stickstoffassimilationsvermögen fehlt. 260
 —, Vorkommen in Wurst. 243
 —, Zersetzung von Cellulose. 252
 —, Zerstörung von Anilinfarben. 231
 — *claviforme*, Hexenringbildung, Wirkung der Temperatur. 371
 — *dupontii* n. sp., Thermophilie. 232
 — *glaucum*, Schädling von *Citrus limonum*. 277
 — —, Vorkommen in afrikanischem Käse. 251
 — —, Wachstum bei verschiedenen Temperaturen. 161
 — *olivaceum*, Widerstandsfähigkeit gegen Tannin. 291
Pennisetum, Schädigung durch *Ustilago kamerunensis*. 279
 — *inclusum*, Schädigung durch *Ustilago scheffleri*. 279
Peridermium abietinum, Beziehung zu *Melampsoropsis abietina*. 283
 — *balsameum*, Beziehung zu *Pucciniastrum arcticum*. 283
 — *conorum-piceae*, Beziehung zu *Melampsoropsis pyrolae*. 283
 — *consimile*, Beziehung zu *Melampsoropsis cassandrae*. 283
 — *cornui*, Schädling der Kiefer. 332
 — *decolorans*, Beziehung zu *Melampsoropsis ledicola*. 283
 — *fructigenum*, Schädling von *Tsuga canadensis*. 338
 — *peckii*, Schädling von *Tsuga canadensis*. 338
 — — — *caroliniana*. 338
 — *pini*, Vorkommen in Irland. 334

Peridermium strobili, Infektion von *Ribes grossularia*. 334
 — —, Schädling von *Pinus excelsa*. 334
 — — — *lambertiana*. 334
 — — — *monticola*. 334
 — — — der Weymouthskiefer. 333
Peronospora, Schädling von Buchweizen. 288
 — *effusa*, Schädling von Spinat. 44
 — *parasitica*, gleichzeitiges Auftreten mit *Cystopus candidus*. 288
 Peroxydasegehalt von Kartoffelknollen. 321

Pestalozzia funerea, Schädling von *Cereus nycticalus*. 280
 — — — *triangularis*. 280
Petersilie, Schädigung durch *Agrotis*. 328
 — — — *Mamestra*. 328
 Pferdebohnen, Impfung mit Azotogen. 269
 Pfirsichbaum s. a. *Prunus persica*.
 —, Vorkommen von *Nectria ditissima*. 540
 Pflanzen, Atmung, Bedeutung der Oxydationsfermente. 237
 —, Bildung von Eiweißkörper, neue Theorie. 532
 —, Krankheiten in Dänemark im Jahre 1911. 289
 — — im Jahre 1909 in Deutschland. 289
 — — — Staate New York. 287
 —, Kultur ohne Bakterien. 202
 —, Wirkung von Nitriden. 268
 Pflaumenbaum s. a. *Prunus domestica*.
 —, Schädigung durch *Exoascus pruni*. 343
Phaseolus lunatus, Wurzelknöllchen. 268
 — *radiatus*, Wurzelknöllchen. 268
 — *vulgaris*, Anomalie. 328
 — —, Schädling von *Vicia faba*. 277
Phoma betae, Schädling von Zuckerrüben. 303
 — —, Vorkommen im Boden. 305
 — *physciicola* n. sp., Schädling von *Physcia aipolia*. 292
 — — — —, — — *Sphyridium fungiforme*. 292
 — *welwitschiae*, Vorkommen auf *Welwitschia*. 279
 Phosphorverbindungen, Assimilation durch *Aspergillus niger*. 231
 —, Wirkung von Bodenbakterien. 498
Phragmidium subcorticium, Schädling von Rosen. 276
Phryganella sp., Vorkommen im Boden. 2
Phycomyes nitens, Aerotropismus, Bedeutung des Nährbodens. 230
Phyllachora trifolii, Schädling von *Trifolium*. 277
Phyllosticta chenopodii, Schädling vom Spinat. 45
 — *cucurbitacearum*, Schädling von *Cucurbita pepo*. 277
 — *genistae*, Schädling von *Genista tinctoria*. 277
 — *hesperidearum*, Schädling von *Citrus limonum*. 277

- Phyllosticta magnoliae*, Schädling von Magnolia. 277
 — *napi*, Schädling von *Brassica napus* (?). 277
 — *platanoides*, Schädling von *Citrus limonum*. 276
 — *populina*, Schädling von *Populus canadensis*. 277
 — *prunicola*, Schädling von *Prunus avium*. 277
Phyllotreta atra, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
 — *cruciferae*, Beschreibung. 309
 — *nemorum*, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
 — *nigripes*, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
 — *sinuata*, Beschreibung. 309
 — *vittula*, Beschreibung. 309
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 309
Phylloxera vastatrix, Schädling vom Weinstock. 276
Physcia aipolia, Schädigung durch *Phoma physciicola*. 292
Phytomyza albiceps, Vorkommen an Feldsalat. 328
 Phytopathologie, Bedeutung der Physiologie. 287
Phytophthora, Schädling der Kartoffel in Frankreich. 288
 — —, — von Tomaten in Frankreich. 288
 — *faberi*, Schädling von *Hevea brasiliensis*. 342
 — *infestans*, Ausbreitung. 281
 — —, Schädling von *Solanum lycopersicum*. 290
 — —, Überwinterung. 316
 — *omnivora*, Infektionsversuch mit Rübenkeimlingen. 304
Phytoptus vitis, Schädling vom Weinstock. 276
Picea rubra, Infektion mit *Melampsoropsis abietina*. 283
 — —, — — *cassandrae*. 283
Pieris brassicae, Schädling vom Kohl. 327
 — *napi*, Schädling vom Kohl. 327
 — *rapae*, Schädling vom Kohl. 327
Pilula straminea n. gen. et n. sp., Ähnlichkeit mit *Eurotium*. 279
 Pilze, Hexenringbildung, Bedingungen. 353
 — —, Ursache. 287
 — —, parasitische, Wanderungen. 281
 — —, Sporengehalt der Luft im Obstgarten und -Keller. 164
 — —, Wirkung von Tannin. 291
Pinnularia sp., Vorkommen im Boden. 2
Pinus excelsa, Schädigung durch *Peridermium strobil*. 334
 — —, — — *Trametes pini*. 334
 — *lambertiana*, Schädigung durch *Peridermium strobil*. 334
 — *montana*, Schädigung durch *Cytosporina septospora*. 333
Pinus monticola, Schädigung durch *Peridermium strobil*. 334
Piophilapi, Schädling von Sellerie. 328
Pirus communis s. a. Birnbaum.
 — —, Schädigung durch *Anthonomus piri*. 277
 — —, — — *Contarinia pirivora*. 276
 — —, — — *Fusicladium pirinum*. 276
 — —, — — *Septoria piricola*. 276
 — *malus* s. a. Apfelbaum.
 — —, Schädigung durch *Monilia fructigena*. 276
Pisum, Wurzelknöllchen. 268
Plantago maior, Schädigung durch *Aphis maidi-radicis*. 298
Plasmodiophora brassicae, Schädling von Kohlrüben. 289
Plasmodiophoraceen, Unterschied von *Myxomyceten*. 329
 — —, Zugehörigkeit von *Tetramyxa parasitica*. 328
 Plasmolyse, Veränderungen der Plasmaoberfläche. 291
Plasmopara viticola, Ausbreitung. 281
 — —, Infektionsversuche. 553
 — —, Inkubationsdauer. 555
 — —, Schädling vom Weinstock. 276
Platyparea poeciloptera, Schädling vom Spargel. 327
Plusia gamma, Schädling vom Kohl. 327
Plutella cruciferarum, Schädling vom Kohl. 327
Poa abbreviata, Schädigung durch *Ascospora graminis* in Grönland. 279
 — *glauca*, Schädigung durch *Ascospora graminis* in Grönland. 279
Polygonum fagopyrum, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
 — *persicaria*, Schädigung durch *Aphis maidi-radicis*. 298
Polyporus compressus, Zugehörigkeit zu *Trametes ochroleuca*. 286
 — *confusus*, Unterschied von *P. craterellus*. 279
 — *craterellus*, Unterschied von *P. confusus*. 279
 — *indicus*, Vorkommen. 279
 — *leveillei*, Zugehörigkeit zu *Trametes ochroleuca*. 286
Populus alba, Gallenbildung durch *Eriophyes populi*. 469
 — *canadensis*, Schädigung durch *Leptosphaeria salicinarum*. 277
 — —, — — *Macrosporium*. 277
 — —, — — *Phyllosticta populina*. 277
 — *nigra*, Gallenbildung durch *Pemphigus bursarius*. 470
 — —, — — *vesicarius*. 470
 Porree, Schädigung durch *Acrolepia betulella*. 328
 — —, — — *Anthomyia ceparum*. 328
 — —, — — *fuscata*. 328
 — —, — — *Drosophila phalerata*. 328
 — —, — — *Eumerus aeneus*. 328

- Porree*, Schädigung durch *Eumerus strigata*. 328
Portulaca oleracea, Schädigung durch *Aphis maidi-radici*. 298
Protococcus, Assimilation freien Stickstoffs. 257
Prunus avium, Schädigung durch *Cercospora cerasella*. 277
 — — — *Clasterosporium amygdalarum*. 276
 — — — *Phyllosticta prunicola*. 277
 — — — *Puccinia cerasi*. 277
 — *domestica* s. a. Pflaumenbaum.
 — —, Schädigung durch *Clasterosporium amygdalarum*. 276
 — *persica* s. a. Pfirsichbaum.
 — —, Schädigung durch *Clasterosporium carpophilum*. 277
 — — — *Sphaerotheca pannosa*. 277
 — *triloba*, Infektionsversuche mit *Tubercularia vulgaris*. 542
 — —, Vorkommen von *Nectria ditissima*. 540
Pseudomonas fragaroidea, Erreger von Ranzigkeit der Milch. 230
 — *radicola*, Lebensfähigkeit in Reinkultur. 199
Pseudopeziza, Zugehörigkeit von *Trochilia populorum*. 339
Psila rosae, Schädling von Mohrrüben. 327
Psychotria geminodens, Schädigung durch *Meliola penicilliformis*. 281
 — *samoana*, Schädigung durch *Meliola penicilliformis*. 281
Psylla fediae, Vorkommen an Feldsalat. 328
Psylliodes attenuatus, Beschreibung. 309
 — *hyoscyami*, Schädling von Zuckerrüben. 309
Puccinia, geographische Verbreitung. 284
 — auf *Triticum caninum*, Zugehörigkeit zu *Aecidium* auf *Actaea spicata*. 282
 —, Schädling von *Carex digitata*, Beziehung zu *Aecidium* auf *Ribes alpinum*. 282
 — *actaeae-elymi*, Schädling von *Actaea spicata*. 282
 — — — *Elymus europaeus*. 282
 — *aliena*, Schädling von *Alchemilla peltata*. 279
 — *alii*, Infektionsversuche. 452
 — *amianthina*, Schädling von *Bambusa*. 279
 — *anthoxanthi*, Schädling von *Anthoxanthum odoratum*. 277
 — *bromina*, Schädling von *Bromus sterilis*. 277
 — —, Vorkommen von *Darluca filum*. 277
 — *cerasi*, Schädling von *Prunus avium*. 277
 — *desertorum*, Schädling von *Evolvulus alsinoides*. 279
 — *graminis*, Anfälligkeit von Weizen-Hybriden. 298
 — —, Schädling vom Roggen. 276. 277
 — —, Spezialisierung in Südafrika. 298
 — —, Überwinterung. Bedeutung der Teutolager an Weizenkörnern. 453
Puccinia haematites, Schädling von *Triaspis auriculata*. 279
 — *longissima*, Beziehung zu *Endophyllum sedi*. 282
 — —, Schädling von *Koeleria cristata*. 282
 — — — *valesiaca*. 282
 — *opizii*(?), Infektion von *Crepis biennis*. 282
 — *podophylli*, Kernverhältnisse. 284
 — *porri*, Infektionsversuche. 452
 — *prunispinosae*, nördlichster Standort. 278
 — *rubigovera*, gleichzeitiges Auftreten mit *Tilletia tritici*. 288
 — *schimperiana*, Schädling von *Lantana (citrifolia?)*. 279
 — *schroeteri*, Infektion von *Narcissus pseudonarcissus*. 452
 — —, Schädling von *Narcissus radiiflorus*. 452
 — *triseti*, Schädling von *Trisetum flavescens*. 277
 — —, Vorkommen von *Darluca filum*. 277
 — *violae*, Schädling von *Viola tricolor*. 277
Pucciniastrum arcticum, Beziehung zu *Peridermium balsameum*. 283
 — —, Schädling von *Rubus idaeus* var. *aculeatissimus*. 283
Pyrenophora filicina, Schädling von *Cystopteris fragilis* in Grönland. 279
Pythium artotrogus, Infektionsversuch mit Rübenkeimlingen. 304
 — *de baryanum* Schädling von Zuckerrüben. 303
 — — —, Seitenwurzelerkrankung an Zuckerrüben. 308
 — — —, Vorkommen im Boden. 305
Queckeneule s. *Hadena basilinea*.
Quercus s. a. Eiche.
 —, Schädigung durch *Cynips caputmedusae*. 277
 — *ilex*, Gallenbildung durch *Andricus singulus*. 470
 — — — *Eriophyes*. 470
 — — — *ilicis*. 470
 — *suber*, Gallenbildung durch *Eriophyes*. 471
 — — — *ilicis*. 470
Radaisiella elegans n. gen. et n. sp., Vorkommen auf Bananenblättern. 278
Radulum molariforme, Vorkommen. 286
Remularia adoxae, Schädling von *Adoxa moschatellina*. 276
 — *betae*, Schädling von Zuckerrüben in Böhmen. 311
 — *lactea*, Schädling von *Viola odorata*. 277
Ranunculus ficaria, Schädigung durch *Entyloma ranunculi*. 277
Rapanea melanophloea, Schädigung durch *Corynelia carpophila*. 279
Raphanus sativus, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
Rauch, Schädigung von Fichten. 331

- Raygras, Vorkommen der Sommergene-
 ration von *Hylemyia coarctata*. 294
 Reduktionsprobe der Milch, Wert. 184
 Reinhefezusatz zu geschwefeltem Most. 248
 Reis, Schädigung durch *Calandra oryzae*.
 302
 Reiskäfer s. *Calandra oryzae*.
 Rettich, Schädigung durch *Anthomyia flo-
 ralis*. 327
 —, — — *Aphis brassicae*. 327
 —, — — *Botys margaritalis*. 327
 —, — — *Ceutorhynchus boraginis*. 327
 Rhizoctonia medicaginis, Vorkommen in
 Amerika. 301
 — solani, Beziehung zu *Hypochnus solani*.
 316
 — violacea, Schädling von *Asparagus offi-
 cinalis*. 277
 —, — — Rüben. 289
 Rhizopus, Vorkommen im Rohrzucker.
 251
 — nigricans, Vorkommen in afrikanischem
 Käse. 251
 — —, Wachstum bei verschiedenen Tem-
 peraturen. 161
 Rhynchites, Schädling von Obstbäumen.
 343
 Rhynchospora, Schädigung durch *Meliola*.
 279
 Ribes alpinum, Aecidium, Beziehung zu
Puccinia auf *Carex digitata*. 282
 Ribes grossularia s. a. Stachelbeerstrauch.
 — —, Infektion mit *Peridermium strobil-*
is. 334
 — —, Trichombildung in stickstoffreicher
 Atmosphäre. 257
 Robinia hispida, Trichombildung in stick-
 stoffreicher Atmosphäre. 257
 — pseudacacia, Schädigung durch *Tra-
 metes ochroleuca* var. *lusitanica*. 286
 — —, Trichombildung in stickstoffreicher
 Atmosphäre. 257
 Roggen, Schädigung durch Blasenfüße. 302
 —, — — *Cladosporium herbarum*. 276
 —, — — *Fusarium* in Dänemark. 288
 —, — — *Puccinia graminis*. 276. 277
 —, — — *Siphonophora cerealis*. 277
 —, — — *Urocystis occulta*. 289
 —, — — Zwergzikaden. 302
 Rohrzucker, Selbstentzündung, Bedeutung
 von *Actinomyces*. 225
 —, — — *Semiclostridium*. 225
 —, Vorkommen von Bakterien. 251
 —, — — *Rhizopus*. 251
 Rosaceen, Schädigung durch *Demato-
 phora necatrix*. 277
 Rose, Schädigung durch *Phragmidium
 subcorticium*. 276
 Rostpilze, Spezialisierung. 452
 — Südafrikas. 297
 —, Überwinterung. 453
 Rotklee, Impfung mit Niträgen. 262
 Rubiaceen, Schädigung durch *Hemileia
 helvola*. 279
 Rübenblattwespe, Schädling von Zucker-
 rüben. 302
 Rübennematode, Schädling von Hafer.
 302
 Rübensaatzpfeifer s. *Botys margaritalis*.
 Rübenschwanzfäule der Zuckerrübe. 302
 Rüsselkäfer, Schädlinge vom Kohl. 327
 Rubus idaeus var. *aculeatissimus*, Schädi-
 gung durch *Pucciniastrum arcticum*. 283
 Rumbrennerei, Mykologie. 217
 Rumex acetosa, Schädigung durch *Uro-
 myces acetosae*. 276
 — crispus, Schädigung durch *Aphis maidi-
 radica*. 298
 Runkelfliege, Schädling von Zuckerrüben.
 302
 Runkelrübe, Schädigung durch *Anthomy-
 ia conformis*. 289
 —, — — *Aphis papaveris*. 289
 —, — — *Rhizoctonia violacea*. 289
 —, — — *Sclerotinia fuckeliana*. 289
 —, Wurzelbrand. 289
 Säure, flüchtige, Bildung durch Hefe. 481
 Säuren, organische, Verhalten von *Monilia
 candida*. 224
 —, — — *Mycoderma cerevisiae*. 224
 —, — — *Oidium lactis*. 224
 Salat s. a. *Lactuca sativa*.
 —, Schädigung durch *Agrotis exclamatio-
 nis*. 327
 —, — — *Anthomyia lactucarum*. 327
 —, — — *Aphis lactucae*. 327
 —, — — *Aphis sonchi*. 327
 —, — — *Arctia caja*. 327
 —, — — Drahtwürmer. 327
 —, — — Engerlinge. 327
 —, — — *Grapholita conterminata*. 327
 —, — — *Trypeta amoena*. 327
 Salix, Schädigung durch *Capnodium sali-
 cinum*. 277
 —, — — *Septoria didyma*. 277
 — babylonica, Gallenbildung durch *Eri-
 ophytes triradiatus*. 469
 — purpurea, Schädigung durch *Nectria
 galligena*. 343
 Salpeterassimilation durch Bodenbakterien.
 169
 Salvinia natans, Assimilation von freiem
 Stickstoff. 258
 Samen, Sterilisation. 201
 Sansevieria guineensis, Schädigung durch
Septogloeum concentricum. 279
 Sarcina aurantiaca, Vorkommen im Main-
 wasser. 245
 — cervina, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — flava, Vorkommen im Mainwasser. 245
 — lutea, Vorkommen im Mainwasser. 245
 Saubohne s. a. *Vicia faba*.
 —, Impfung mit Niträgen. 262
 Schalotte, Schädigung durch *Anthomyia
 platyura*. 328
 Schattenmorelle, Vorkommen von *Nectria
 ditissima*. 540

- Schildläuse, Vorkommen von *Torrubiella brunnea*. 280
- Schimmelpilze, Vorkommen im afrikanischen Käse. 251
- , — in Wurst. 243
- Schneeschild, Auftreten nach nassen Sommern in Dänemark. 294
- , Bekämpfung durch Saatgutbehandlung mit Heißwasser. 294
- , — — — Kupfervitriol. 294
- Schorf der Zuckerrübe. 302
- Schorfkrankheit des Apfelbaums. 343
- — Birnbaums. 343
- Schütte der Kiefer, Empfänglichkeit verschiedener Sorten. 335
- — Weymouthskiefer. 331
- Schwarzbeinigkeit der Kartoffel durch Insektenfraß. 326
- an *Vicia faba* durch *Bacterium xanthochlorum*. 319
- Schwarzrost, Überwinterung. 453
- Schweden, Pilzflora, Beiträge. 278
- Schwefelleber, Bekämpfungsmittel gegen *Sclerotinia sclerotiorum*. 316
- Schweiz, Brandpilze. 295
- Scilla bifolia*, Immunität gegen *Uromyces scillarum*. 452
- Sclerotinia cinerea*, Infektion verschiedener Kirschbaumarten. 284
- *fuckeliana*, Schädling von Rüben. 289
- *sclerotiorum*, Bekämpfung mit Schwefelleber. 316
- *trifoliorum*, Schädling vom Klee in Dänemark. 289
- —, — von *Trifolium*. 277
- Scolecotrichum fraxini*, Schädling von *Fraxinus*. 277
- Scorzonera hispanica*, Schädigung durch *Cystopus tragopogonis*. 277
- Sedum reflexum*, Schädigung durch *Endophyllum sedi*. 282
- Sellerie, Schädigung durch *Agrotis*. 328
- , — — *Mamestra*. 328
- , — — *Piophilapi*. 328
- , — — *Septoria apii*. 290
- Semiclostridium*, Bedeutung für die Selbstentzündung von Rohrzucker. 225
- Senecio*, Schädigung durch *Septoria*. 277
- Sepedonium lanuginosum*, Thermophilie. 232
- Septogloeum concentricum*, Schädling von *Sansevieria guineensis*. 279
- Septoria*, Schädling von *Senecio*. 277
- *apii*, Bekämpfung mit Bordeauxbrühe. 290
- —, Schädling von Sellerie. 290
- *cyclaminis*, Schädling von *Cyclamen europaeum*. 276
- *didyma*, Schädling von *Salix*. 277
- *evonymi*, Schädling von *Evonymus europaea*. 276
- *nebulosa*, besser *Rhabdospora grönlandica*. 279
- Septoria piricola*, Schädling von *Pirus communis*. 276
- *semilunaris*, Identität mit *Rhabdospora drabae*. 279
- *tussilaginis*, Schädling von *Tussilago*. 277
- Seradella*, Impfung mit Nitragin. 262
- Setaria glauca*, Schädigung durch *Aphis maidi-radici*. 298
- —, — — *Contarinia sorghicola*. 301
- Seynesia elegantula*, Schädling von *Xymalos*. 279
- Sieglingia seslerioides*, Schädigung durch *Contarinia sorghicola*. 301
- Siphonophora cerealis*, Schädling von Gerste. 277
- —, — vom Hafer. 277
- —, — — Roggen. 277
- —, — — Weizen. 276
- Skalenaraeometer, neue. 605
- Sminthurus luteus*, Schädling von Zuckerrüben. 302
- Soja hispida*, Wurzelknöllchen. 268
- Sojabohne, Vorkommen von Urease. 240
- Solanum lycopersicum* s. a. Tomate. 276
- —, Schädigung durch Bakterien. 290
- —, — — *Cladosporium fulvum*. 290
- —, — — *Phytophthora infestans*. 290
- *melongena*, Schädigung durch *Ascochyta hortorum*. 287
- *nigrum*, Assimilation von freiem Stickstoff. 258
- Solenia palmicola*, Vorkommen. 286
- Solidago rugosa*, Schädigung durch *Uromyces solidaginis-caricis*. 283
- Sorghum*, Schädigung durch *Aphis maidi-radici*. 298
- , — *Bacillus sorghi*. 277
- , — — *Contarinia sorghicola*. 301
- *halepense*, Schädigung durch *Sphacelotheca reiliana*. 301
- Sorolpidium betae* n. gen. et n. sp., Schädling der Zuckerrübe. 306
- Sorosporium tristachydis*, Schädling von *Tristachya*. 279
- Spargel s. a. *Asparagus officinalis*. 327
- , Schädigung durch *Aphis papaveris*. 327
- , — — *Calocampa exoleta*. 302
- , — — *Crioceris asparagi*. 302
- , — — *Crioceris duodecimpunctata*. 302
- , — — *Lema asparagi*. 327
- , — — *Lema campestris*. 327
- , — — *Lema 5 punctata*. 327
- , — — *Lema 12 punctata*. 327
- , — — *Lema 14 punctata*. 327
- , — — *Mamestra oleracea*. 327
- , — — *Mamestra pisi*. 327
- , — — *Platyparea poeciloptera*. 327
- Sphacelotheca reiliana*, Schädling von *Sorghum halepense*. 301
- Sphaerolima worsdellii*, Vorkommen auf Blättern von *Welwitschia mirabilis*. 279
- Sphaerotheca pannosa*, Schädling von *Prunus persica*. 277

- Sphyridium fungiforme*, Schädigung durch
Phoma physciicola. 292
 Spinat, Schädigung durch *Amphipyra*
tragopogonis. 328
 —, — — *Heliodines roesella*. 328
 —, — — *Heterosporium variabile*. 40
 —, — — *Peronospora effusa*. 44
 —, — — *Phyllosticta chenopodii*. 45
 Spinnmilbe, Schädling von Zuckerrüben.
 302
Spinx celerio, Schädling von Mohrrüben. 327
Spiraeanthemum, Schädigung durch *Me-*
liola andromedae. 280
Spirogyra, Assimilation freien Stickstoffs.
 257
 Splintkäfer, Schädling von Ulmen. 339
Spongospora subterranea, Bekämpfung
 durch Saatgutbehandlung mit Kupfer-
 vitriol. 316
 — —, Schädling von Kartoffeln. 316
Sporidesmium putrefaciens, Infektionsver-
 such mit Rübenkeimlingen. 304
 — —, Schädling von Zuckerrüben. 302
Sporonema phacidioides, Schädling von
Medicago sativa. 277
 Springschwanz s. *Sminthurus luteus*.
 Stachelbeermeltau, Auftreten in Frankreich
 288
 Stachelbeerstrauch s. a. *Ribes grossularia*.
 —, Schädigung durch *Aphis maidi-radiciis*.
 298
 Steinbrand s. a. *Tilletia*.
 —, Wirkung auf die Form der Weizen-
 ähren. 300
Sterigmatocystis, Vorkommen in Wurst. 243
 Stickstoff, Bindung, Bedeutung des Ver-
 hältnisses von gebundenem Stickstoff zu
 aufnehmbarem Kohlenstoff. 267
 Stickstoffdünger, organischer, Zersetzung
 und Wirkung. 274
 Stickstoff, freier, Assimilation durch Algen.
 257
 —, —, — — höhere Pflanzen. 258
 Stickstoffumsetzung im Boden, Wirkung
 von kohlensaurem Kalk. 261
Stilbella heveae, Vorkommen auf *Hevea*
brasiliensis. 342
Stizolobium deeringianum, Wurzelknöll-
 chen. 268
Streptococcus lactis, Schwärzung von Aes-
 culin-Bouillon. 182
 — — *innocuus*, Schwärzung von Aesculin-
 Bouillon. 182
 — *pyogenes*, Vorkommen im Mainwasser.
 245
 Streptokokken, Vorkommen in Milch. 249
 Stundengärleistung, Definition. 375
 Südafrika, Getreiderostpilze. 297
 Tabakextraktlösung, Bekämpfungsmittel
 gegen Blattläuse. 309
Taeniotes suturalis, Schädling von *Castilleja*
elastica. 342
 Tanne, Sämlinge, Eingehen. 332
 Tannin, Bedeutung als natürliches Pflan-
 zenschutzmittel. 235. 291
 —, Wirkung auf Pilze. 291
Tarsonemus spirifex, Schädling vom Hafer.
 301
 Taschenschildkröte, Schädling von *Ca-*
stilleja elastica. 342
 Temperatur, Wirkung auf Hexenringbil-
 dung von Pilzen. 371
 Termiten, Schädlinge von *Castilleja ela-*
stica. 342
Tetramyxa parasitica, Zugehörigkeit zu
Plasmodiophoraceen. 328
 — *triglochinis*, Zugehörigkeit zu *Mollia-*
dia. 328
Tetrastichus, natürlicher Feind von *Con-*
tarinia sorghicola. 301
Thea viridis, Schädigung durch *Gloeosporium*
theae. 276
Theobroma cacao, Schädigung durch *Di-*
plodia cacaoicola. 279
 — —, Schädigung durch *Nectria theobro-*
micola. 279
Thrips secalina, Schädling vom Weizen. 276
 — *vulgatissima*, Schädling von Mohrrüben.
 327
 Thysanopteren, Schädlinge vom Weizen. 302
Tilia, Schädigung durch *Eriophyes tiliae*.
 276
 — *europaea*, Schädigung durch *Ceroospora*
microsora. 277
Tilletia laevis s. a. Steinbrand.
 — —, Fütterungsversuche mit Schweinen.
 296
 — *pulcherrima*, Schädling von *Ammo-*
chlora subacanthis. 279
 — *tritici*, Abtötung der Sporen im Tier-
 darm. 297
 — —, gleichzeitiges Auftreten mit *Pucci-*
nia rubigovera. 288
 — —, Deformation von *compactum-Wei-*
zen. 300
 — —, Fütterungsversuche. 296
 — —, Schädling vom Weizen. 276
Tipula oleracea, Schädling vom Kohl. 327
 — *paludosa*, Schädling von Getreide. 289
 Tomate s. a. *Solanum lycopersicum*.
 —, Schädigung durch *Bacillus solanacea-*
rum. 319
 —, — — *Phytophthora* in Frankreich. 288
Torrubiella brunnea n. sp., Vorkommen auf
 Schildläusen. 280
Tradescantia, Assimilation von freiem
 Stickstoff. 258
Trametes ochroleucus, Zugehörigkeit von
Formes scutellatus. 286
 — *ochroleuca*, Zugehörigkeit von *Poly-*
porus compressus. 286
 — —, — — *leveillei*. 286
 — —, — — *Trametes ohiensis*. 286
 — — *var. lusitanica*, Schädling von *Robi-*
nia pseudacacia. 286
 — *ohiensis*, Zugehörigkeit zu *Trametes*
ochroleuca. 286

- Trametes pini*, Schädling von *Pinus excelsa*. 334
 Transpiration, Wirkung auf die Hexenringbildung von Pilzen. 366
Triaspis auriculata, Schädigung durch *Puccinia haematodes*. 279
Tricalciumphosphat, Lösung durch enzymatische Stoffe. 271
Trichothecium roseum, Schädling von Melonen. 330
Tricoseptoria alpei, Schädling von *Citrus limonum*. 277
Trifolium s. a. Klee.
 —, Schädigung durch *Phyllachora trifolii*. 277
 —, — — *Sclerotinia trifoliorum*. 277
 — *hybridum*, Wurzelknöllchen. 268
 — *incarnatum*, Wurzelknöllchen. 268
 — *pratense*, Wurzelknöllchen. 268
Trinema enchelys, Vorkommen im Boden. 2
Triozia camphorae u. sp., Schädling von *Cinnamomum camphora*. 341
Triphragmium thwaitesii, Identität mit *T. clavellousum*. 280
Trisetum flavescens, Schädigung durch *Puccinia triseti*. 277
Tristachya, Schädigung durch *Sorosporium tristachydis*. 279
Triticum caninum, *Puccinia*, Zugehörigkeit zu *Aecidium* auf *Actaea spicata*. 282
 — *compactum* var. *echinodes*, Deformation durch *Tilletia tritici*. 300
 — — — *erinaceum*, Deformation durch *Tilletia tritici*. 300
 — — — *hystrix*, Deformation durch *Tilletia tritici*. 300
Triozia nigricornis, Schädling von Zuckerrüben. 302
Trochilia populorum, Zugehörigkeit zu *Pseudopeziza*. 339
Trypeta amoena, Schädling vom Lattich. 327
 —, — — Salat. 327
Tsuga canadensis, Schädigung durch *Peridermium fructigenum*. 338
 —, — — — *peckii*. 338
 — *caroliniana*, Schädigung durch *Peridermium peckii*. 338
Tubercularia vulgaris, Infektion von *Prunus triloba*. 542
 Tuberkelbazillen, Vorkommen in Milch. 249
Turrea, Schädigung durch *Aecidium ugandense*. 279
Tussilago, Schädigung durch *Septoria tussilaginis*. 277
Tylachium africanum, Schädigung durch *Asterostomella africana*. 279
Tylenchus tritici, Schädling vom Weizen. 277
Typhula filata, Vorkommen. 286
 — *graminum*, Schädling von Gerste. 288
 — *virescens*, Vorkommen. 286
 Tyrosinasegehalt von Kartoffelknollen. 321
Tyrothrix tenuis, Schwärzung von Aesculin-Bouillon. 182
 Ulme, Schädigung durch Splintkäfer. 339
 Unkraut, Bekämpfung, Bedeutung parasitischer Pilze. 301
 Uredineen, heterözische, Infektionsversuche. 282
 Urease, Vorkommen an Sojabohnen. 240
Uredo scheffleri, Schädling von *Maerua*. 279
 — —, — — *Capparis* (?). 279
Urocystis occulta, Schädling von Roggen. 289
Uromyces, geographische Verbreitung. 284
 — *acetosae*, Schädling von *Rumex acetosa*. 276
 — *betae*, Schädling von Beta. 277
 — *caricina*, Schädling von *Carex scoparia*. 283
 — *carpathicus* n. sp., Schädling von *Geranium phaeum*. 282
 — — —, Unterschied von *U. geranii* u. *U. kabatianus*. 282
 — *comptus*, Schädling von *Ipomoea bipinnatifida*. 279
 — *fabae*, Schädling von *Vicia faba*. 276
 — *geranii*, Unterschied von *U. carpathicus*. 282
 — *kabatianus*, Unterschied von *U. carpathicus*. 282
 — *minutus*, Schädling von *Carex triceps*. 283
 — *peckianus*, Infektion von *Atriplex patula* var. *hastata*. 284
 — — — *Chenopodium album*. 284
 — —, Schädling von *Distichlis spicata*. 284
 — *perigynius*, Schädling von *Carex*. 283
 — *pisi*, Schädling von *Euphorbia cyparissias*. 276
 — *scillarum*, Schädling von *Muscari racemosum*. 452
 — —, Spezialisierung. 452
 — *scutellatus*, Schädling von *Euphorbia*. 277
 — *solidaginis caricis*, Schädling von *Carex deflexa*. 283
 — — — — *flava*. 283
 — — — — *gracillima*. 283
 — — — — *lanuginosa*. 283
 — — — — *pubescens*. 283
 — — — — *Solidago rugosa*. 283
 — —, Verbreitung. 283
 — *striatus*, Schädling von *Lotus corniculatus*. 277
 — *uniporulus* n. sp., Schädling von *Carex debilis*. 283
 — *valens* n. sp., Schädling von *Carex utriculata*. 283
Ustilago antherarum, Biologie. 297
 — —, Schädling von *Melandryum album*. 297
 — *kamerunensis*, Schädling von *Pennisetum*. 279
 — *maydis*, intracarpellare Prolifikation an *Zea mays*. 299
 — —, Schädling vom Mais. 302
 — *scheffleri*, Schädling von *Pennisetum inclusum*. 279

- Vermicularia trichella*, Schädling von *Hedera helix*. 276
- Verticillium albo-atrum*, Erreger der Blattrollkrankheit der Kartoffel. 316
- , Infektion von Kartoffelknollen. 315
- , Vorkommen in Kartoffelstengeln. 326
- Vicia faba* s. a. Saubohne.
- , Schädigung durch *Bruchus rufimanus*. 277
- , — — *Cucumis melo*. 277
- , — — *Macrosporium commune*. 277
- , — — *Phaseolus vulgaris*. 277
- , — — *Uromyces fabae*. 276
- , Schwarzbeinigkeit durch *Bacterium xanthochlorum*. 319
- , Wurzelknöllchen. 268
- Vigna unguiculata*, Wurzelknöllchen. 268
- Viola odorata*, Schädigung durch *Ramularia lactea*. 277
- *tricolor*, Schädigung durch *Puccinia violae*. 277
- Wachholder, Schädigung durch *Ceratomyces juniperinum*. 338
- Wasser, Bakterienflora des New-Yorker Hafens. 197
- , biologische Untersuchung für Brauereizwecke. 179
- , chemische Zusammensetzung und biologisches Verhalten. 244
- , Fäkalbakterien, Verschwinden beim Stehenlassen. 247
- , Keimzählung, Bedeutung des Nährbodens. 200
- , Probeentnahme, Apparat. 197
- , Vorkommen von Bakterien. 245
- Wein, Bereitung, Mykologie. 219
- , Rohfäule und Edelfäule. 220
- Weinstock, Infektion der Blätter mit *Plasmopara viticola*. 553
- , — — Trauben mit *Plasmopara viticola*. 558
- , Schädigung durch *Alternaria vitis*. 276
- , — — *Aureobasidium vitis* var. *album*. 276
- , — — *Botrytis cinerea*. 290
- , — — *Dematophora necatrix*. 276
- , — — *Macrophoma flaccida*. 276
- , — — *Phylloxera vastatrix*. 276
- , — — *Phytophthora vitis*. 276
- , — — *Plasmopara viticola*. 276
- Weizen, Infektion der Samen mit *Puccinia graminis*. 453
- , Keimung, Wirkung von Ammoniak. 589
- , — — Mangandioxyd. 237
- , Rostanfälligkeit von Hybriden. 298
- , — verschiedener Sorten.. 299
- , Schädigung durch *Cecidomyia destructor*. 277
- , — — *Enchytraeus labifer*. 290
- , — — Kleinzirpen. 302
- , — — *Siphonophora cerealis*. 276
- , — — *Thrips secalina*. 276
- Weizen, Schädigung durch Thysanopteren. 302
- , — — *Tilletia tritici*. 276
- , — — *Tylenchus tritici*. 277
- , — — Zwergzikaden. 302
- , Wirkung von Steinbrand auf die Form der Ähren. 300
- Welwitschia, Vorkommen von *Phoma welwitschiae*. 279
- *mirabilis*, Vorkommen von *Sphaerotinia morsdellii* auf den Blättern. 279
- Weymouthskiefer, Blasenrost. 333
- , Schädigung durch *Peridermium strobi*. 333
- , Schütte. 331
- Wicke, Impfung mit Nitragin. 262
- , Keimung, Wirkung von Ammoniak. 589
- Wicken, Krankheiten. 277
- Wintersaateule s. *Agrotis segetum*.
- Wurst, Vorkommen von Bakterien. 243
- , — — Schimmelpilzen. 243
- Wurzelbrand der Zuckerrübe, Bedeutung der Bodenbearbeitung. 307
- — —, Ursache und Bekämpfung. 303, 305
- — —, Vorkommen der Erreger im Boden. 305
- , Vorkommen an Rüben. 289, 302
- Wurzelknöllchen, Lebensfähigkeit der Organismen in Reinkultur. 199
- Xymalos, Schädigung durch *Seynesia elegantula*. 279
- Ypsiloneule s. *Plusia gamma*.
- Zea mays* s. a. Mais.
- , intracarpellare Prolifikation durch *Ustilago maydis*. 299
- Zitronensäure, Wirkung auf die Nitratreduktion. 423
- Zuckerrübe, Blattlausbekämpfung. 308
- , frühzeitige Blütenbildung, Ursache. 311
- , Herzfäule. 302
- , —, Auftreten in Frankreich. 288
- , Herz- und Trockenfäule, Bedeutung der Bodenbearbeitung. 307
- , — —, Geschichte. 306
- , Infektionsversuche mit *Botrytis cinerea*. 304
- , — — *Cladosporium herbarum*. 304
- , — — *Pythium artotrogus*. 304
- , — — *Phytophthora omnivora*. 304
- , — — *Sporodesmium putrefaciens*. 304
- , Rübenschwanzfäule. 302
- , Saatgutbehandlung. 308
- , Schädigung durch *Anthomyia conformis*. 289
- , — — *Aphalara calthae*. 302
- , — — *Aphanomyces laevis*. 303
- , — — *Aphis papaveris*. 289
- , — — Bakterien. 302
- , — — Blattläuse. 302

Zuckerrübe, Schädigung durch <i>Cercospora beticola</i> .	302. 310	Zuckerrübe, Schädigung durch Zwergzikade.	302
—, — — <i>Chaetocnema concinna</i> .	309	—, Schorf.	302
—, — — <i>Chlorita flavescens</i> .	302	—, Seitenwurzelerkrankung durch <i>Aphanomyces laevis</i> .	308
—, — — <i>Cicadula sexnotata</i> .	302	—, — — <i>Pythium de baryanum</i> .	308
—, — — <i>Cuscuta europaea</i> .	314	—, Wurzelbrand.	289. 302
—, — — — <i>gronowii</i> .	314	—, —, Bedeutung der Bodenbearbeitung.	307
—, — — Drahtwürmer.	302	—, —, Geschichte.	303
—, — — Erdflöhe.	302	—, —, Ursache und Bekämpfung.	303. 305
—, — — Erdräupen.	302	—, —, Vorkommen der Erreger im Boden.	305
—, — — <i>Heterodera schachtii</i> .	311	<i>Zukalia gynopogonis</i> n. sp., Unterschied von <i>Z. juruana</i> .	280
—, — — Kleinzirpen.	302	— — —, Vorkommen auf <i>Gynopogon scandens</i> .	280
—, — — <i>Longitarsus longipennis</i> .	309	Zwergzikaden, Schädlinge von Gerste.	302
—, — — — <i>ochroleucus</i> .	309	—, — vom Hafer.	302
—, — — — <i>tabidus</i> .	309	—, — — Roggen.	302
—, — — <i>Lygus campestris</i> .	302	—, — — Weizen.	302
—, — — <i>Phoma betae</i> .	303	Zwergzikade, Schädling von Zuckerrüben.	302
—, — — <i>Phyllotreta atra</i> .	309	Zwiebel, Schädigung durch <i>Acrolepia betulella</i> .	328
—, — — — <i>nemorum</i> .	309	—, — — <i>Anthomyia fuscata</i> .	328
—, — — — <i>nigripes</i> .	309	—, — — — <i>ceparum</i> .	328
—, — — — <i>vittula</i> .	309	—, — — <i>Drosophila phalerata</i> .	328
—, — — <i>Psylliodes byoscyami</i> .	309	—, — — <i>Eumerus aeneus</i> .	328
—, — — <i>Pythium de baryanum</i> .	303	—, — — — <i>strigata</i> .	328
—, — — <i>Ramularia betae</i> in Böhmen.	311	Zygnema, Assimilation freien Stickstoffs.	257
—, — — <i>Rhizoctonia violacea</i> .	289	Zymase, Zugehörigkeit zu typischen Fermenten.	238
—, — — Rübenblattwespe.	302		
—, — — Runkelfliegen.	302		
—, — — <i>Sclerotinia fuckeliana</i> .	289		
—, — — <i>Sminthurus luteus</i> .	302		
—, — — <i>Sorolpidium betae</i> .	306		
—, — — Spinnmilbe.	302		
—, — — <i>Sporidesmium putrefaciens</i> .	302		
—, — — <i>Trioza nigricornis</i> .	302		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

<i>Acrostalagmus cinnabarinus</i> , Hexenringbildung.	366. 367. 368	<i>Citromyces</i> , Konidienträger.	356
Alkalisalze, Giftwirkung auf Bakterien.	60	<i>Deverra scoparia</i> , Stengelgalle.	476
<i>Bacillus denitrificans</i> , Methylenblau-Reduktion (Kurven).	444	<i>Endophyllum sempervivi</i> , Aecidientwicklung.	145. 146. 148. 149
— <i>fluorescens liquefaciens</i> , Methylenblau-Reduktion (Kurven).	443. 447	—, — (Taf. I, Fig. 1—13; Taf. II, Fig. 14—23).	156
— — —, Nitratreduktion (Kurven).	429	— —, <i>Spermogonium</i> .	145
— <i>pyocyaneus</i> , Methylenblau-Reduktion (Kurven).	442. 447	— —, Sporenkeimung.	141. 142. 143
— — —, Nitratreduktion (Kurven).	428	— —, — (Taf. II, Fig. 24—46).	157
— —, Wirkung von Phosphorsäure (Kurven).	426	<i>Ephedra fragilis</i> , Zweiggalle.	469
Bakterien, Wachstum (Kurven).	380	<i>Fusicladium</i> , Mycel.	547. 548
—, Wirkung von Alkalisalzen (Kurven).	60	<i>Heterosporium variabile</i> , Blattflecken auf Spinat.	41
Bakteriengehalt des Bodens in verschiedenen Monaten (Kurven).	73. 74. 78. 82. 83. 84. 89. 90	— —, Mycel und Sporen.	48. 49. 54. 55
Boden, Bakteriengehalt in verschiedenen Monaten (Kurven).	73. 74. 78. 82. 83. 84. 89. 90	<i>Hypocrea rufa</i> , Hexenringbildung.	369. 372. 373
<i>Cephalothecium roseum</i> , Hexenringbildung.	368. 370	Käsestoff, Löslichkeit, Beziehung zur Wasserstoff-Ionenkonzentration (Kurven).	19. 24
		Lakmus, Entfärbung durch Bakterien (Taf. IV).	448
		<i>Linaria reflexa</i> , Stengelgalle.	476

Loranthus sphaerocarpus auf Dracaena, Haustorienbildung.	571. 576. 577. 579. 580	Quercus coccifera, Blattgalle durch Dryo- myia cocciferae.	473
— — — —, — (Taf. I).	587	— mirbeckii, Erineumgallen.	471
Methylenblau, Entfärbung durch Bakterien (Taf. V und VI).	449	Sempervivum mit Endophyllum semper- vivi.	143. 144
Penicillium, Konidienträger.	355. 356	Skalenaraeometer.	605. 606
Peronospora effusa, Blattflecken auf Spinat.	44	Spinat, Blattflecken durch Heterosporium variabile.	41
Phenolphthalein, Entfärbung durch Bak- terien (Taf. I—III).	448	—, — — Peronospora effusa.	44
		—, Blattquerschnitt mit Mycel von Hetero- sporium variabile.	47

IV. Neue Literatur.

158. 344. 477. 607.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

AN INITIAL FINE OF 25 CENTS

**WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH
DAY AND TO \$1.00 ON THE SEVENTH DAY
OVERDUE.**

Book Slip-10m-8,'51(6813s4)458

81917		QR1
zen. f. bakt.		Z4
		Abt.2
		v.32

Zen.

QR1
Z4
Abt. 2
V.32

81917

